SYNTHESE

und

ZNS-PHARMAKOLOGISCHE PRÜFUNG

2-SUBSTITUIERTER

1,2,3,4-TETRAHYDRO-ß-CARBOLINE

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hildegard Schulte-Sienbeck
aus Herten

Berlin 1975

SYNTHESE

und

ZNS-PHARMAKOLOGISCHE PRÜFUNG

2-SUBSTITUIERTER

1,2,3,4-TETRAHYDRO-ß-CARBOLINE

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hildegard Schulte-Sienbeck
aus Herten

Berlin 1975

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Gutachter: Prof. Dr. K. Rehse

2. Gutachter: Prof. Dr. A. Kreutzberger

Tag der mündlichen Prüfung: 17. 12. 1975

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547206_0028

Inhalt

Seite

1. Einleitung und Problemstellung

1.1. Wirkungsweise des Reserpins 3

1.2. Pharmakologische Aktivitäten in der ß-Carbolin Reihe

1.2.1. Antihypertensive Wirkung 5

1.2.2. MAO-Hemmung 7

1.2.3. Beeinflussung des Serotonin Stoffwechsels 9

1.2.4. Tremor - Erzeugung in Tierexperimenten 10

1.2.5. Zentral sedierende Wirkung 11

1.2.6. Sonstige Wirkungen 14

1.3. Problemstellung 16

2. Chemischer Teil

2.1. Synthese von 1,2,3,4-Tetrahydro-ß-carbolin 17

2.2. Substitution am Pyridin - Stickstoff 18

2.2.1. Säureamidbildung und anschließende Reduktion zum Amin

2.2.1.1. Säureamidbildung 18

2.2.1.2. Reduktion der Säureamide 25

2.2.1.3. Darstellung und Eigenschaften von 2-(3,4-Diacetoxyphenyläthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin 32

2.2.2. Anlagerung von Äthylenoxid und anschließende Veresterung des entstandenen Aminoalkohols . . 33

2.2.3. Amin - Amin Austausch 35

2.3. Experimenteller Teil 40

3. Pharmakologische Untersuchungen 54

3.1. Ergebnisse des Maus - Screens auf Wirkung am Nervensystem 55

3.2. Weitere pharmakologische und biochemische Charakterisierung der Verbindungen 38 und 41

3.2.1. Begründung der Auswahl und Ziel der Untersuchungen 62

3.2.2. Material und Methoden 63

3.2.3. Ergebnis 69

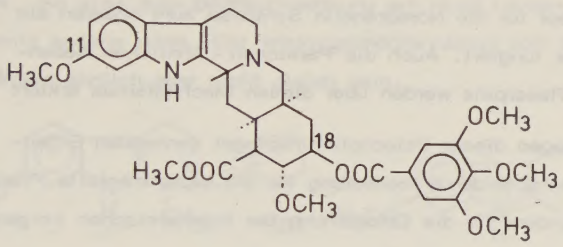
3.3. Diskussion 86

4. Zusammenfassung 91

1. EINLEITUNG und PROBLEMSTELLUNG

1.1. Wirkungsweise des Reserpins

Reserpin (**1**) ist von den Alkaloiden, die aus den Wurzeln verschiedener Rauwolfia - Arten isoliert werden, das wirksamste und am meisten untersuchte. Die Synthese des relativ kompliziert gebauten Alkaloids gelang WOODWARD [1] 1956.



1

Die verschiedenen pharmakologischen Eigenschaften des Reserpins sind ausführlich von SCHITTLER [2] beschrieben worden. Weitere Angaben finden sich in den Standardwerken der Pharmakologie [3), 4)].

Reserpin hat zwei therapeutische Anwendungsgebiete: als Antihypertensivum aufgrund der peripheren blutdrucksenkenden Eigenschaften

---

1) Woodward, R.B., Bader, F.E., Bickel, H., Frey, A.J. und Kierstad, R.W., J.Am.Chem.Soc. 78, 2023 + 2657, (1956)

2) Schittler, E., Bein, H.J., Rauwolfia Alkaloids, In: Schittler, E.(Hg), Antihypertensiv Agents, 191- 221, Academic Press, New York - London 1967.

3) Nickerson, M., Drug Inhibiting Adrenergic Nerves and Structures Innervated By Them, In: Goodman, L.S., Gilman, A. (Hg), The Pharmacological Basis of Therapeutics, 575, The Macmillan Company, New York 1970.

4) Domino, E.F., Antipsychotics: Phenothiazines, Thioxanthenes, Butyrophenones, and Rauwolfia Alkaloids, In: Dipalma, J.R.(Hg), Drill's Pharmacology in Medicine, 480/1, McGraw-Hill, New York 1971.

und - seltener - als Neurolepticum aufgrund der zentral bedingten sedierenden Eigenschaften. Der Wirkungsmechanismus bzw. die Mechanismen des Reserpins sind bis heute nicht völlig geklärt. Sicher ist, daß es den Gehalt an Catecholaminen und Serotonin (5HT) in vielen Organen einschließlich Gehirn, Herz, Blutgefäßen und Nebennierenmedulla senkt und das Speichervermögen herabsetzt [3]. Dabei soll nach MARTIN-SMITH [5] der Senkung der zentralen Dopaminspiegel eine entscheidende Rolle zukommen, da Dopamin zum einen als Precursor für die Noradrenalin Synthese zum anderen als Neurotransmitter fungiert. Auch die Parkinson - ähnlichen Nebenwirkungen des Reserpins werden über diesen Mechanismus erklärt [6].

Reserpin hat wegen dieser Catecholaminspiegel senkenden Eigenschaften eine entscheidende Bedeutung für die experimentelle Pharmakologie insbesondere für die Erforschung der biochemischen Vorgänge im Gehirn [7].

Arbeiten über Struktur - Wirkungsbeziehungen des Reserpins beschäftigen sich einerseits mit nur geringfügigen Veränderungen des Reserpinmoleküls, z.B. Änderungen der Estergruppe in 18-Stellung, Methylierung am Indolstickstoff oder Änderung der Stereochemie. Dies führt durchweg zu Wirkungsschwächung oder Wirkungsverlust [2]. Andererseits gibt es eine Reihe von Veröffentlichungen über vereinfachte Strukturmodelle des Reserpins. Dabei wird zum größten Teil von Derivaten des 1,2,3,4-Tetrahydro-ß-carbolins ausgegangen.

Im folgenden sollen die dabei angegebenen pharmakologischen Aktivitäten zusammengestellt werden.

---

5) Martin-Smith,M., Sneader,W.E., Prog. Drug Res., 13, 54, Hg.: Jucker,E., Birkhäuser-Verlag, Basel 1969.

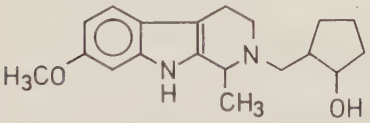
6) Hornykiewicz,O., Res.Publ.Ass.Nerv.ment.Dis.,50, 397, Hg.: Kopin,I.J., Waverly Press, Baltimore 1972.

7) Valzelli,L., Psychopharmacology, 141, Spectrum Publications, New York 1973.

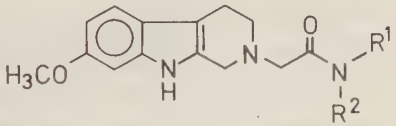
1.2. Pharmakologische Aktivitäten in der ß-Carbolin Reihe.

1.2.1. ANTIHYPERTENSIVE WIRKUNG

Da die antihypertensive Wirkung des Reserpins die therapeutisch nützlichste Eigenschaft ist, sind Strukturanaloge dieses Alkaloids häufig auf diese pharmakologische Eigenschaft hin getestet worden. SCHELJASKOV [8] stellte neben anderen Verbindungen Substanz **2** her, die eine gute Blutdrucksenkung am Hund hervorruft, dabei aber wenig sedativ wirkt. Der Wirkungsmechanismus soll dem des Reserpins ähnlich aber nicht gleich sein.



2



3

Befindet sich in ß-Stellung zum Pyridin - Stickstoff eine Säureamid Gruppe z.B. **3**, so kommt es nach BIKOVA [9] zur Abnahme der Intensität und Dauer des hypotensiven Effekts und zur Auslösung einer langdauernden pressorischen Wirkung. Daneben werden bei diesen Verbindungen zentralstimulierende, konvulsionserregende und analgetische Wirkungen beobachtet.

Von PROTIVA und VEJDELEK gibt es zahlreiche Arbeiten über "Synthetische Modelle hypotensiv wirksamer Alkaloide" [10), 11), 12)].

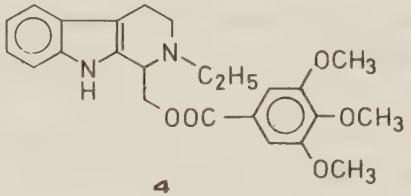
8) Scheljaskov,L.,Bikova,N.,Denkova,E.,Daleva,L.,Sejkova,J., Harionov,I.,Zarkova,S.und Ognjanova,W., Wiss.Beitr.Martin-Luther-Univ.,Halle-Wittenberg, 229, (1969).

9) Bikova,N.,Denkova,E.,Dalewa,L.,Wankow,St., Pharmazie 28,799, (1973)

10) Protiva,M.,Vejdelek,Z.J.,Jilek,J.O. und Macek,K., Collect. Czech.Chem.Commun. 24, 3978 - 3987, (1959).

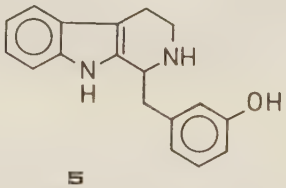
11) Protiva,M.,Jilek,O.,Hachova,E.,Vejdelek,Z.J. und Adlerova,E., Collect.Czech.Chem.Commun. 24 74 (1959).

Angaben über die Pharmakologie dieser Verbindungen sind allerdings nur selten vorhanden. Als Beispiel sei die Verbindung **4** genannt, die am Hund eine schwache Blutdrucksenkung hervorruft[13].



4

LOGEMANN[14] stellt blutdrucksenkende Wirkung u.a. bei **5** fest.



5

In Patentschriften[15), 16)] werden blutdrucksenkende Eigenschaften von 1,2,3,4-Tetrahydro-ß-carbolinen häufig angeführt, unter anderen von 1-Oxo-Derivaten[17) 18)].

12) Protiva, M., Jilek, J.O., Hach, V., Adlerova, E. und Mychajlyszyn, V., Collect. Czech. Chem. Commun. 24, 83, (1959).

13) Vejdelek, Z.J., Trcka, V. und Protiva, M., J. Med. Pharm. Chem. 3, 427 - 440 (1961).

14) Logemann, W., Almirante, L., Caprio, L. und Meli, A., Chem. Ber. 88, 1952 (1955)

15) U.S. 2.819.997-8 (1958), ref.: C.A. 52 8208

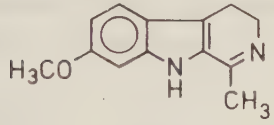
16) Czech. 113.377 (Cl, C 07 d), ref.: C.A. 64 17662 d

17) Japan. 22.852(`64) (1962), ref.: C.A. 62 11817 e

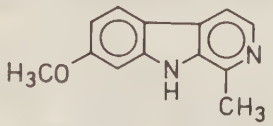
18) Japan. 7592 (`66) (1963), ref.: C.A. 65 8917 e

1.2.2. MAO - HEMMUNG

Die Hemmung des Ferments Monoaminoxidase ist zunächst bei natürlich vorkommenden ß-Carbolinen, den Harmala - Alkaloiden, insbesondere dem Harmalin (7-Methoxy-1-methyl-3,4-dihydro-ß-carbolin) (**6**) und dem Harmin (7-Methoxy-1-methyl-ß-carbolin) (**7**) beobachtet worden [19), 20)].

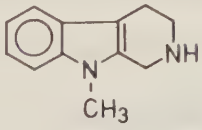


6



7

B.T. HO u.a. synthetisierten eine Reihe von methylierten Tetrahydro- und aromatischen ß-Carbolinen [21), 22), 23), 24)] und untersuchten diese auf MAO hemmende Eigenschaften, wobei die letzteren im allgemeinen wirksamer waren. Nur das 9-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**8**) zeigt hohe Aktivität.



8

19) Udenfriend,S., Witkop,B., Redfield,B.G. und Weissbach,H., Biochem.Pharmacol. 1, 160 (1958)

20) Pletscher,A., Besendorf,H., Bächtold,H.P. und Gey,K.F., Helv.Physiol.Acta 17, 202-214 (1959)

21) Ho,B.T., McIsaac,W.M., Walker,K.E. und Estevez,V., J.Pharm.Sci. 57, 269 (1968)

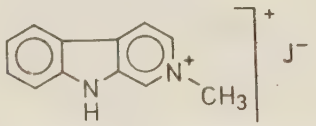
22) Ho,B.T., McIsaac,W.M. und Walker,K.E., J.Pharm.Sci. 57, 1364 (1968)

23) Ho,B.T., McIsaac,W.M. und Tansey,L.W., J.Pharm.Sci. 58, 998 (1969)

24) Ho,B.T., Fritchie,G.E., Kralitz,P.M., Tansey,L.W., Walker,K.E. und McIsaac,W.M., J.Pharm.Sci. 58, 1423 (1969).

Auch von McISAAC [25] werden Struktur - Wirkungsbeziehungen der ß-Carboline als MAO - Hemmer diskutiert: größere Substituenten am Pyridin - Stickstoff führen zu Wirkungsverlusten, was ebenso von anderen Autoren [26] erwähnt wird.

Ein ausschließlich peripher wirkender und damit für die Erforschung der unterschiedlichen Formen peripherer und zentraler MAO interessanter Hemmstoff ist Substanz **9** [27].



9

Auf weitere in der Literatur angegebene Aktivitäten MAO - hemmender ß-Carboline sei an dieser Stelle lediglich hingewiesen [27) - 32)].

25) McIsaac,W.M. und Estevez,V., Biochem.Pharmacol., 15 1625-1627 (1966)

26) Velichkova,St., Tr.Nauchnoizsled.Khim.-Farm.Inst.,8 321 -326 (1972). ref.: C.A. 79 38449 x.

27) Ho,B.T., Gardner,P.M., Pong,S.F. und Walker,K.E., Experienta 29, 527 - 529 (1973), und Ho,B.T., Gardner,P.M. und Walker,K.E., J.Pharm.Sci. 62, 36 - 39 (1973)

28) I-Chih Tung, Yin-Hsi Huang, Chen-Ch'un Wu und Kuo Huang Ling, Tai-wan j-hsuch-hui tsa-chih 59 550 - 555 (1960), ref.: C.A. 22 314 e

29) I-Chih Tung (Natl. Taiwan Univ.), Tai-wan i-hsuch-hui tsa-chih 59, 889 - 898 (1960), ref.: C.A. 55 13425 h

30) Oki,S., Hamaguhi,F., und Nagasaka,T., Japan.Kokai 74 48,700, (1974) ref.:C.A. 79 140182 d

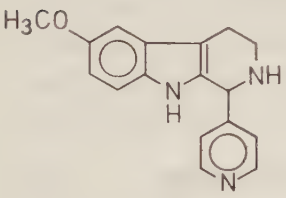
31) Bourguignon-Zylber,N. und Polonsky,J., Chim.Ther. 5, 396 - 400 (1970)

32) U.S. 3.214.433 (1965) ref.: C.A. 64 3540 d

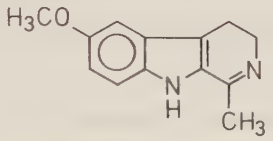
1.2.3. BEEINFLUSSUNG des SEROTONIN STOFFWECHSELS

Vom Harmalin (**6**) ist neben der MAO-hemmenden Wirkung eine Serotonin antagonisierende und halluzinogene Wirkung bekannt [33].

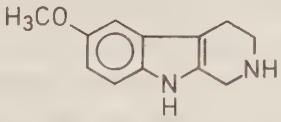
Nach GRYGLEWSKI [34] wird bei 1-substituierten 6-Methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolinen ein kompetitiver Antagonismus zu Serotonin in Bezug auf dessen muskulotrope Wirkung beobachtet. Die wirksamste Verbindung war **9** . Sie erreichte aber nicht die Wirksamkeit von Lysergsäurediäthylamid.



9



10



11

Das 6-Methoxy-1-methyl-3,4-dihydro-ß-carbolin (**10**) antagonisiert ebenfalls Serotonin [35], während das 6-Methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**11**) den Gehalt an Serotonin im Gehirn von Ratten und Mäusen erhöht [36]. Eingehende Untersuchungen über Metabolismus [37] und

33) Ho,B.T.,Estevez,V.,Fritchie,G.E.,Tansey,L.W.,Idänpään-Heikkilä,J.und McIsaac,W.M.,Biochem.Pharmacol. 20, 1313 (1971)

34) Gryglewski,R.J.,Misztal,S.H.,Splawinski,J.A. und Panczenko,B. J.Med.Chem. 9, 471 - 473 (1966).

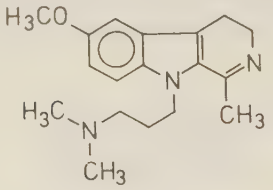
35) McIsaac,W.M., Khairallah,P.A. und Page,I.H., Science 134, 674 (1961)

36) McIsaac,W.M., Taylor,D., Walker,K.E. und Ho,B.T., J.Neurochem. 19, 1203 - 1206 (1972)

37) Ho,B.T., Taylor,D.,Walker,K.E. und McIsaac,W.M, "Xenobiotica" 2, 349 - 362 (1972)

Wirkungsmechanismus [38), 39)] der Substanz **11** führten zu keiner eindeutigen Bestimmung der Wirkungsweise.

Einen Zusammenhang mit der Struktur von **10** zeigt die Verbindung **12**, die in einer japanischen Patentschrift [40)] als Serotonin - Antagonist und ZNS anregendes Pharmakon bezeichnet wird.



12

1.2.4. TREMOR - ERZEUGUNG in TIEREXPERIMENTEN

Durch Harmalin (**6**) und Harmin (**7**) wird bei den meisten Tieren ein zentral bedingter Tremor erzeugt, so daß die so behandelten Tiere zur Erforschung von Anti - Parkinsonmitteln eingesetzt werden können [41)]. In jüngster Zeit ist nun eine Vielzahl von Arbeiten erschienen, die versuchen die zentralen biochemischen Vorgänge, die dieser Tremorwirkung zugrunde liegen, aufzuklären.

Es scheint sich um eine Wirkung auf das extrapyramidale dopaminerge System zu handeln [42)]. Das cholinerge System soll mit ein-

---

38) Ho,B.T., Taylor,D., Askew,W.E. und McIsaac,W.M., Life Sci. 11, 493 - 502 (1972)

39) Ho,B.T., Taylor,D., Walker,K.E. und McIsaac,W.M., Can.J.Biochem. 51, 482 - 485 (1973)

40) Japan. 6470 ('65) (1962) ref.: C.A. 63 1789 c

41) Lamarre,Y. und Mercier,L.-A., Can.J.Physiol.Pharmacol. 49, 1049 - 1058 (1971)

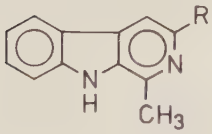
42) Fuentes,J.A. und Longo,V.G., Neuropharmacology 10, 15 - 23 (1971)

geschlossen sein [43], und aufgrund von Struktur - Wirkungsbeziehungen wird auf spezifische tremorerzeugende Rezeptoren geschlossen [44), 45].

Die bereits erwähnte MAO - hemmende Wirkung von Harmin (**7**) ist nicht die Ursache dieser Tremor - Wirkung [46), 47)]. Umfangreiche Untersuchungen über Wechselwirkungen zwischen Harmalin (**6**) und anderen Pharmaka sind von LAROCHELLE [48)] und WINTER [49)] gemacht worden.

1.2.5. ZENTRAL SEDIERENDE WIRKUNG

Es ist eine Vielzahl von ß-Carbolinen beschrieben worden - vorallem in Patentschriften -, die Wirkungen auf das Zentral - Nervensystem entfalten sollen. Sie werden als ZNS - Depressiva bezeichnet, z.B. Harman - Derivate [50), 51)] (**13**),



R = H, Cl, CH_3 **13**

43) Battista,A.F., Goldstein,M., Ogawa,M. und Anagnoste,B., Abstr.Papers, Am.Chem.Soc. 1971, Medi 55

44) Zetler,G., Singbartl,G. und Schlosser,L., Pharmacology 7, 237 - 248 (1972)

45) Singbartl,G., Zelter,G. und Schlosser,L., Neuropharmacology 12, 239 - 244 (1973)

46) Cox,B. und Potkonjak,D., Eur.J.Pharmacol. 16, 39 - 45 (1971)

47) Coates,G.H. und Cox,B., Eur.J.Pharmacol. 18, 284 - 286 (1972)

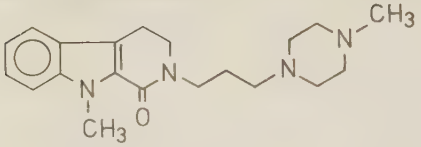
48) Larochelle,L., Bedard,P., Poirier,L.J. und Sourkes,T.L., Neuropharmacology 10, 273 - 288 (1971)

49) Winter,J.C., Arch.Intern.Pharmacodyn. 191, 120 - 132 (1971)

50) Japan. 72 30719 (1967)

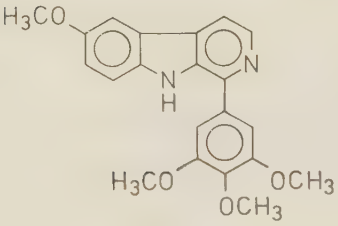
51) Japan. 72 30718 (1967)

oder 1-Oxo-tetrahydro-ß-carbolin - Derivate [52), 53)] (u.a. Verbg. **14**),

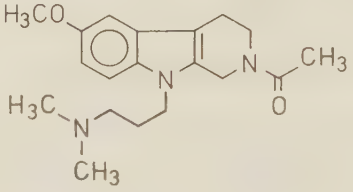


14

als Tranquilizer [54), 55), 56)] z.B. Verbindung **15** [55)] oder **16** [56)]

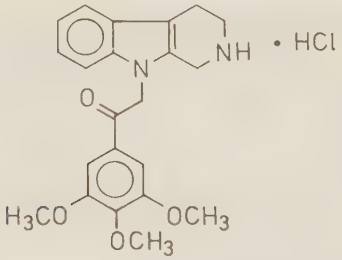


15



16

oder als ZNS Sedativa [57)] (u.a. Verbg. **17**).



17

JULA u.a. verglichen ß-Carbolin - Derivate des Tryptophans mit denen des Tryptamins, wobei die letzteren stärker sedierend wirkten [58)].

52) Japan. R 789 (`66) ref.: C.A. 64 17604 e

53) Japan. 2713 (`66) ref.: C.A. 64 17608 e

54) Neth. Appl. 6412 919 (1965) ref.: C.A. 63 13266 d

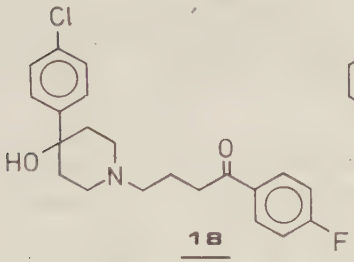
55) Neth. Appl. 6412 920 (1965) ref.: C.A. 63 13266 d

56) Japan. 118 (`64) ref.: C.A. 63 5652 c

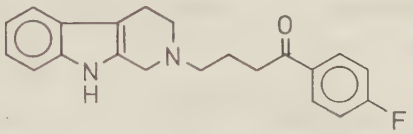
57) U.S. 3,029,247 (1962) ref.: C.A. 57 8580

58) Julia, M. und Lallemand, J.Y.,
Bull.Soc.Chim.France II, 6 2058-2064 (1973)

Wahrscheinlich in Anlehnung an das stark neuroleptisch wirkende Haloperidol (**18**) ist Tetrahydro-ß-carbolin mit dem Butyrophenonrest substituiert worden [59]. Diese Verbindung **19** soll starke neuroleptische Eigenschaften aufweisen. Die therapeutische Breite soll größer



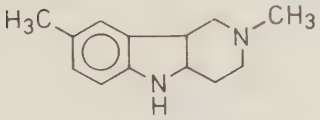
18



19

sein als beim Haloperidol, jedoch muß wesentlich höher dosiert werden. Solche Butyrophenon - Derivate sind auch von γ-Carbolinen hergestellt worden und sollen als analgesierende Tranquilizer wirksam sein [60].

Ebenfalls in die Gruppe der γ-Carboline gehört das stark antiagressiv und neuroleptisch wirkende Carbidin (**20**) [61), 62), 63)].



20

59) Ger. Off. 206 2828 (1972)

60) Kimura,E.T., Dodge,P.W. Young,P.R., Johnson,R.P., Arch.int.Pharmacodyn. 190, 124 - 134 (1971)

61) Barkov,N.K., Farmakol.Toxikol. 34, 647 - 650 (1971)

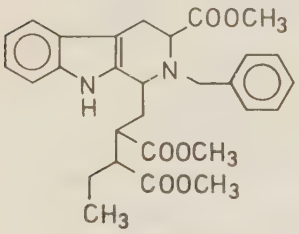
62) Barkov,N.K., Zh.Nevropatol.Psikhiatr. 72 , 108 - 111 (1972)

63) Barkov,N.K. und Kucherova,N.F., Khim.-Farmatsevt.Zh. 1972 , 23 - 27

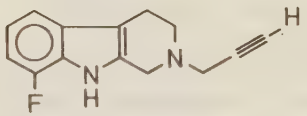
1.2.6. SONSTIGE WIRKUNGEN

Neben den in den ersten fünf Abschnitten angeführten pharmakologischen Aktivitäten der ß-Carboline werden dieser Verbindungsklasse vornehmlich in Patentschriften eine Reihe weiterer Wirkungen zugesprochen.

Verbindungen wie Substanz **21** sollen antidepressiv wirken[64),65),66)], ebenso Substanz **22**[67)].

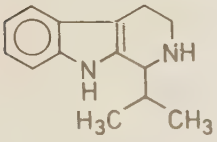


21

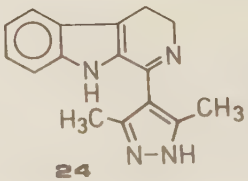


22

Als Analgetica sind 1-substituierte 1,2,3,4-Tetrahydro-ß-carboline deklariert, z.B. Substanz **23**[68)].



23



24

Eine antihyperglykämische Wirkung wird substituierte 1-Amino-3,4-dihydro-ß-carbolinen zugeschrieben, z.B. Substanz **24**[69)].

64) Japan. 72 45,356 (1973) ref.: C.A. 78 58385 f

65) Japan. 72 45,355 (1973) ref.: C.A. 78 58386 g

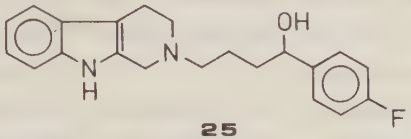
66) Japan. 72 45,357 (1973) ref.: C.A. 78 58388 j

67) U.S. 3,718,657 (1973) ref.: C.A. 79 5320 v

68) Neth.Appl. 6.512.087 (1966) ref.: C.A. 65 3844 d

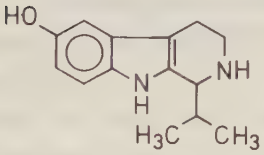
69) Ger.Off. 202 1519 (1971)

Gegen den Erreger der "Chagas - Krankheit", Trypanosoma cruzi, sind Verbindungen aus der Reihe der ß-Carboline wie Substanz **25** ebenso wirksam wie die entsprechenden Derivate der γ-Carboline [70), 71)].

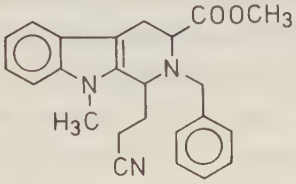


25

Diuretische Aktivitäten soll nach PETROVA [72)] der Verbindung **26** zukommen.



26



27

Schließlich wird antiarrhytmische Aktivität der Substanz **27** zugeschrieben [73)].

---

70) Ger.Off. 2 117 286 (1971)

71) Ger.Off. 2 115 738 (1971)

72) Petrova,M.F., Kaverina,N.S. und Menshikov,G.P., Khim.Geterotsikl.Soedin. 1967, 865 - 867 (1967)

73) Japan. 72 43 956 ref.: C.A. 78 72090 u

1.3. Problemstellung

Die vorstehende Übersicht zeigt, daß die ß-Carboline je nach Hydrierungsgrad und nach Art ihrer Substitution recht verschiedenartige, jedoch bislang kaum vorherzusagende pharmakologische Profile aufweisen.

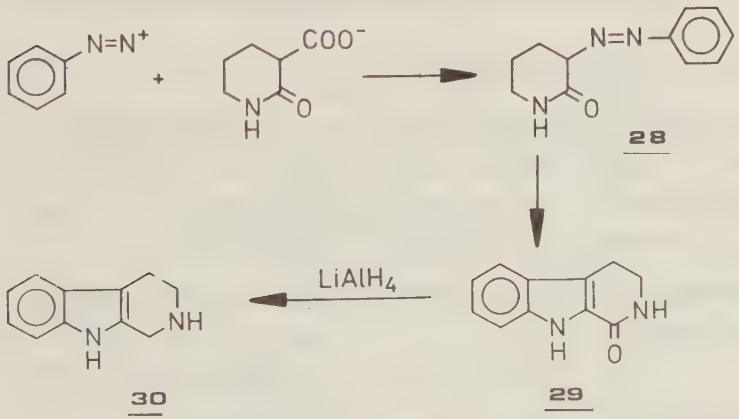
Mit der vorliegenden Arbeit soll daher zur Kenntnis der Beziehungen zwischen chemischer Struktur und pharmakologischer Wirkung in der genannten Substanzklasse beigetragen werden.

Wegen der in dieser Reihe herausragenden Bedeutung des Reserpins wurden hier ausschließlich bisher unbekannte alkoxyphenylsubstituierte Tetrahydro-ß-carboline synthetisiert und auf ihre Wirkung am Nervensystem hin untersucht.

2. CHEMISCHER TEIL

2.1. Synthese von 1,2,3,4-Tetrahydro-ß-carbolin (**30**)

Synthesen und Eigenschaften von unsubstituierten Carbolinen sind ausführlich beschrieben[74]. Drei Literaturvorschriften zur Darstellung des Grundkörpers **30** [75), 76), 77)] wurden nachgearbeitet, von denen sich diejenige von R.A. Abramovitch und D. Shapiro[77] in einer Modifikation[78] aufgrund der leicht zugänglichen Ausgangssubstanzen und der guten Ausbeuten als die geeigneteste erwies. Aus Benzoldiazoniumchlorid und 2-Piperidon-3-carbonsäureäthylester entsteht in einer Japp - Klingemann - Reaktion das 2,3-Dioxopiperidin-3-phenylhydrazon (**28**), das sich in saurem Milieu analog der Fischerschen - Indolsynthese zum 1-Oxo-1,2,3,4 -tetrahydro-ß-carbolin (**29**) umlagert. Die Reduktion zu **30** gelang mit Lithiumaluminiumhydrid in kochendem Tetrahydrofuran analog der Literaturvorschrift[78], jedoch wurde die Reaktionszeit erheblich verkürzt.



74) Abramovitch,R.A., Spenser,I.D.,Adv.in Het.Chem. 3, 79 - 207, Academic Press, New York and London, (1964)

75) Manske,R.H.F.und Robinson,R., J.Chem.Soc. 1927,240

76) Ho,B.T. und Walker,K.E., Org.Synth. 51, 136 - 138 (1971)

77) Abramovitch,R.A. und Shapiro,D., J.Chem.Soc. 1956, 4589

78) Fr. Patentschrift M 3395, ref.: C.A. 63 13340

2.2. Substitution am Pyridin-Stickstoff

Die zwei Teilstrukturen des Reserpins, das 1,2,3,4-Tetrahydro-ß-carbolin (**30**) und der Trimethoxyphenylrest, sollten über Kohlenstoffketten unterschiedlicher Länge, die verschiedene funktionelle Gruppen wie Ester,- Amid- und Ketofunktionen tragen, miteinander verbunden werden, und zwar sollte die Substitution in 2-Stellung des Carbolinsystems vorgenommen werden. Andererseits war geplant, analog der Struktur des Dopamins Dimethoxy- und Diacetoxyphenylalkyl - Derivate von **30** zu synthetisieren.

Ein naheliegender Syntheseweg, der zu 2-substituierten Tetrahydro-ß-carbolinen führt, ist die Reaktion der entsprechenden Alkylhalogenide mit der Base **30** [79]. Für die geplanten Verbindungen mußten jedoch andere Synthesewege gefunden werden, da die benötigten Alkylhalogenide nur schwer zugänglich waren.

2.2.1. SÄUREAMIDBILDUNG und anschließende REDUKTION zum AMIN

2.2.1.1. Säureamidbildung

Es sind einige Säureamidderivate des Tetrahydro-ß-carbolins (**30**) bekannt. Sie wurden entweder durch Verschmelzen der Base mit Säureanhydriden [80] oder durch Reaktion von Säurechloriden mit der Base in geeigneten Lösungsmitteln [81), 82] synthetisiert.

Ich stelite nach der letzteren Methode die Säureamide **31** - **36** dar (siehe Tabelle 1).

---

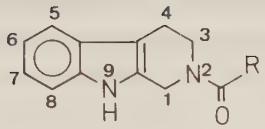
79) Protiva,M. Vejdelek,Z.J., Jilek,J.O. und Macek,K., Collect.Czech.Chem.Commun. 24, 3978 (1959) , siehe 10)

80) Pachter,I.J., Mohrbacher,D.E. Zacharias,D.E., J.Am.Chem.Soc. 83, 635 (1961)

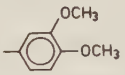
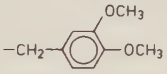
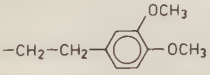
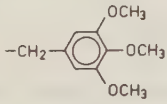
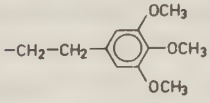
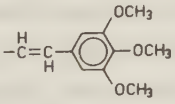
81) Ashan,A.M. und Linell,W.H., J.Chem.Soc. 1963, 3928

82) Bruening,C.H., Darling,C.M.,Magarian,R.A. und Nobles,W.L., J.Pharm.Sci. 54, 1696 (1965)

Tabelle 1



31 — 36

Subst. Nr.	R	Summenformel MG (MS)	IR-Amid-bande(KBr) (cm^{-1})	Fp. (^{o}C)
31		$C_{20}H_{20}N_2O_3$ 336	1600	188
32		$C_{21}H_{24}N_2O_3$ 350	1615 s 1625	185
33		$C_{22}H_{24}N_2O_3$ 364	1610 s 1625	171
34		$C_{22}H_{24}N_2O_4$ 380	1615 s 1625	176
35		$C_{23}H_{26}N_2O_4$ 394	1610 s 1630	148
36		$C_{23}H_{24}N_2O_4$ 392	1640	198

s = Schulter

Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur in Chloroform oder in der Siedehitze in Benzol unter Zusatz von Kalium- oder Natriumcarbonat durchgeführt.

Als Strukturbeweise dienten neben den Elementaranalysen vornehmlich ^{1}H-NMR-, Infrarot- und Massenspektren.

Am Beispiel des ^{1}H-NMR - Spektrums der Verbindung **32** sei die Zuordnung der Protonen zu den Resonanzsignalen erläutert.

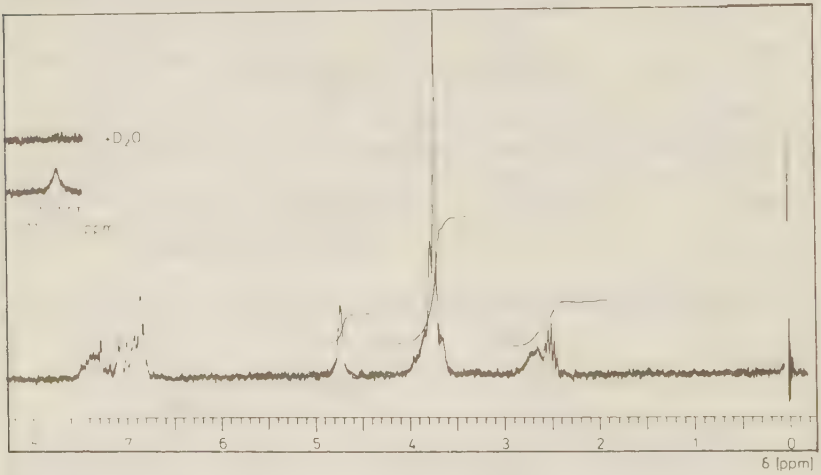


Abb.1 ^{1}H-NMR - Spektrum von **32** (in DMSO - d_6)

Bei 10,7 ppm erscheint das gegen D_2O austauschbare Proton am Stickstoff in 9-Stellung des Carbolin - Systems als breites Singulett. Die insgesamt sieben aromatischen Protonen werden als Multiplett bei 6,75 - 7,5 ppm registriert. Dem Signal bei 4,7 ppm sind die Protonen an C_1 zuzuordnen. Das Integral der Signale bei 3,6 - 3,9 ppm zeigt 10 Protonen an. Es handelt sich hierbei um ein Singulett (3,75ppm), das die 6 Protonen der aromatischen Methoxygruppen bilden, um ein weiteres Singulett (3,78ppm) der 2 Methylenprotonen der Seitenkette und um das Signal der 2 Protonen in 3-Stellung des Carbolins. Die Protonen an C_4 des Carbolins erscheinen bei 2,7 ppm.

Im unsubstituierten Tetrahydro-ß-carbolin bilden die Protonen in 3- und 4- Stellung ein A_2B_2 - System (J_{ab} = 5,5 Hz, δ = 18 Hz, berechnet nach [83]. Durch den Einfluß der Säureamidbindung wird δ vergrößert, während die Kopplungskonstante sich kaum verändert. Das A_2B_2 - System geht also in ein A_2X_2 - System über. Dennoch besteht das Signal der C_4 - Protonen nicht aus drei scharfen Linien, sondern ist wahrscheinlich durch geminale Kopplung weiter aufgespalten. Zusätzlich könnte eine Kopplung mit den Protonen an C_1 erfolgen, da auch deren Signal angespalten ist.

In Tabelle 2 sind die wichtigsten ^{1}H-NMR - Daten der Säureamidderivate **31 - 36** zusammengestellt.

Tabelle 2: Chemische Verschiebung in δ ppm

Subst. Lsgm.	der Protonen an C_1	an C_3	$-OCH_3$	$-CO-CH_2$	$-CH_2-Ar$	der Prot. an C_4
30	s [76]	t [76]	-------	-------	-------	t [76]
DMSO-d_6	3,85 (2)	3,00 (2)				2,70 (2)
31	s	t (breit)	s	-------	-------	t (breit)
$CDCl_3$	4,7 (2)	3,75 (2)	3,8 (6)			2,8 (2)
32	s	t (breit)	s	s	-------	t (breit)
DMSO-d_6	4,7 (2)	3,8 (2)	3,75 (6)	3,78 (2)		2,7 (2)
33	s	t (breit)	s	m		
$CDCl_3$	4,8 (2)	3,8 (2)	3,8 (6)	2,6 - 3,1 (6)		
34	s	t (breit)	s	s	-------	t (breit)
$CDCl_3$	4,8 (2)	3,8 (2)	3,8 (6)	3,6 (2)		2,7 (2)
35	s	t (breit)	s	m		
$CDCl_3$	4,8 (2)	3,8 (2)	3,8 (9)	2,6 - 3,1 (6)		
36	s	t (breit)	s	Olefinische Protonen 4Banden (AB-System) 6,9 7,7 J = 16 Hz		t (breit)
$CDCl_3$	4,9 (2)	3,87 (2)	3,85 (9)			2,85 (2)

83) Suhr, H., Anwendungen der Kernmagnetischen Resonanz in der organischen Chemie, 67, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1965)

Aus den ^{1}H-NMR - Daten der Verbindung **36** geht hervor, daß es sich um ein Derivat der trans-Zimtsäure handeln muß, da die Kopplungskonstante der beiden olefinischen Protonen mit J = 16 Hz gemessen wurde, was dem in der Literatur[84] angegebenen Wert für die trans-Zimtsäure entspricht. Zudem wurde bei der Synthese das trans - Isomere der 3,4,5-Trimethoxyzimtsäure eingesetzt.

Die Massenspektren der Verbindungen **31** - **36** zeigen die aufgrund der Molekülstruktur zu erwartenden Ionen an. In allen 2 - substituierten Derivaten des Tetrahydro-ß-carbolins ist ein Peak bei m/e 143 entweder als Basispeak (**32** und **34**) oder mit großer relativer Intensität registriert. Das zugehörige Ion entsteht durch Retro-Diels-Alder - Fragmentierung, was mit den von Agurell[85] für das 2-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin erhobenen Befunden übereinstimmt (siehe Schema 1, Abbauweg A). Der weitere Abbau dieses Ions zum Benzocyclopentadienylkation mit m/e 115 wird durch Untersuchungen von Coutts[86] über 1-Alkyl-tetrahydro-ß-carboline gestützt. Das ebenfalls bei allen 2 - substituierten Derivaten auftretende Fragment m/e 171 kann durch Oniumspaltung und anschließende CO - Abspaltung (Abbauweg B, Schema 1) oder über eine Tropyliumspaltung und anschließende Keten - Abspaltung (Abbauweg C) entstehen. Dieser Abbauweg ist natürlich den Derivaten vorbehalten, die in der Seitenkette eine dem Aromaten benachbarte Methylengruppe enthalten. Die hierbei abgespaltenen Dimethoxy - bzw. Trimethoxytropyliumionen werden bei m/e 151 bzw. m/e 181 registriert. Bei Verbindung **33** und **35** entsteht durch Ionisation des verbleibenden Restes der Peak bei m/e 213. Ist dieser Abbauweg ausgeschlossen, kommt es bevorzugt zur Oniumspaltung der Säureamidbindung, wodurch der Basispeak im Spektrum von **31** zu erklären ist (Abbauweg D, Schema1).

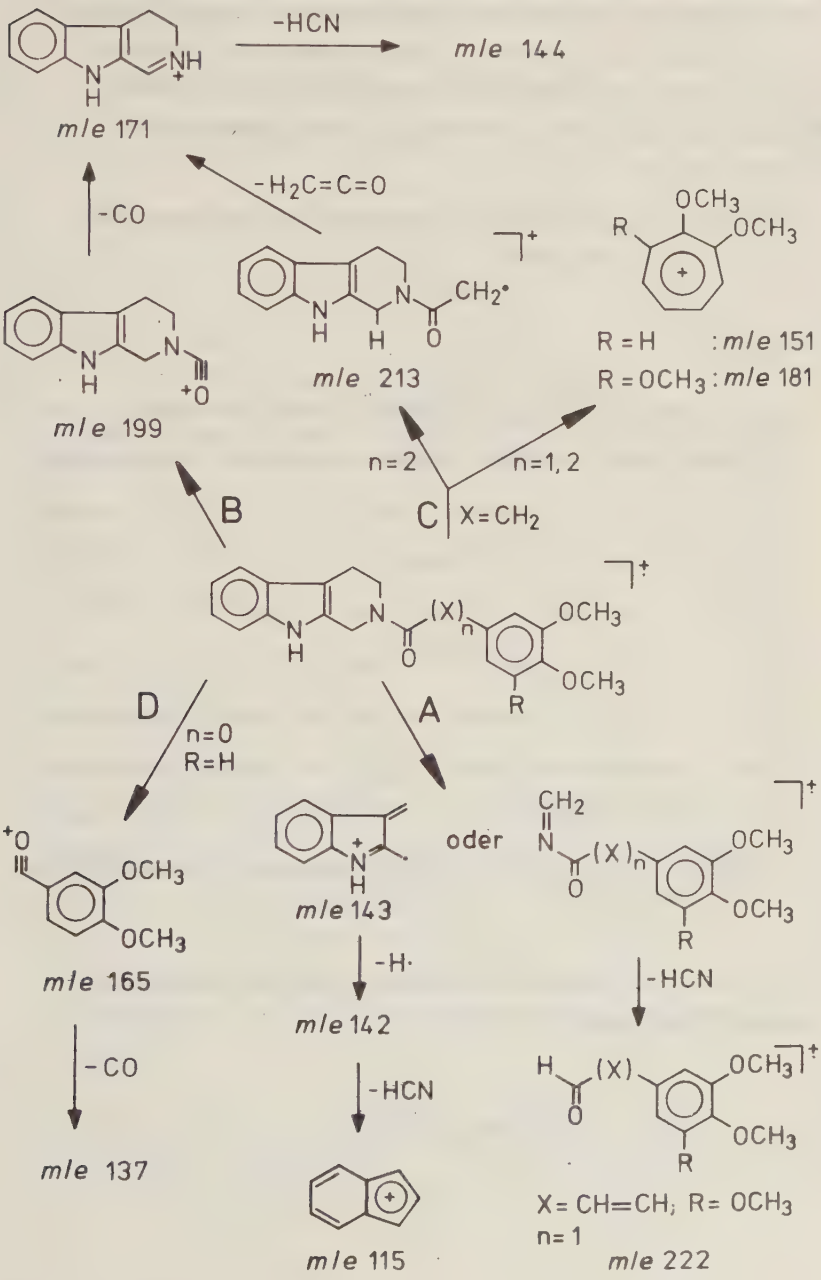
---

84) Günther,H., NMR-Spektroskopie, 114, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1973)

85) Agurell,S., Holmstedt,B. und Lindgren,J.E., Am.J.Pharm. 140, 148 (1968)

86) Coutts,R.T.,Locock,R.A. und Slywka,G.W.A., Org.Mass.Spect. 3,879 - 889, (1970)

Schema 1: Massenspektrometrischer Abbau der Säureamide **31 - 36**



Ausschließlich im Massenspektrum von **36** wird mit einer relativen Intensität von 94 % ein Peak bei m/e 222 registriert, dessen Bildung über den Abbauweg A (Schema 1) erklärt werden kann: es entsteht aus dem bei der Retro-Diels-Alder - Spaltung auftretenden Seitenkettenfragment durch HCN - Abspaltung Trimethoxyzimtaldehyd mit der Massenzahl 222.

In der Tabelle 3 sind die relativen Intensitäten der wichtigsten Molekülfragmente zusammengestellt.

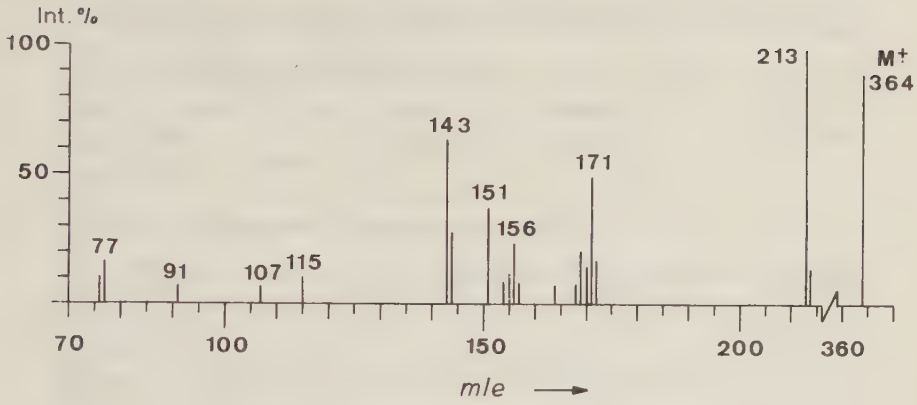
Tabelle 3

Angabe der relativen Intensitäten (%)

Subst.Nr.:	**31**	**32**	**33**	**34**	**35**	**36**
m/e						
143	50	100	64	100	67	63
171	45	42	50	60	100	100
151	--	66	38	--	--	--
181	--	--	--	61	30	--
213	--	--	100	--	70	--
165	100	--	--	--	--	--
222	--	--	--	--	--	94

Zusätzlich sei als Beispiel das Massenspektrum der Verbindung **33** angegeben (Abbildung 2).

Abb. 2 : Massenspektrum von **33**



2.2.1.2. Reduktion der Säureamide

Aus den Säureamiden **31 - 36** entstanden durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid die in Tabelle 4 angegebenen Amine **37 - 42**.

Entweder wurde dabei in trockenem Äther oder - je nach Löslichkeit der Amide - in Tetrahydrofuran gearbeitet. Lithiumaluminiumhydrid mußte in großem Überschuß eingesetzt werden. Die Reaktionszeit betrug bei Siedehitze 2 - 3 Stunden. Verbindung **43** wurde aus 2-(3,4,5-Trimethoxybenzoyl-)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**44**) [81] hergestellt.

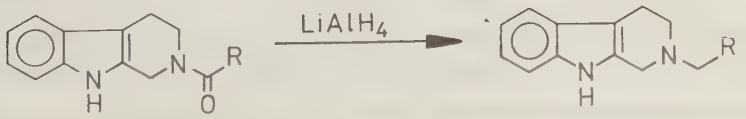
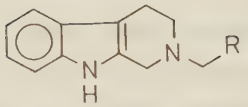
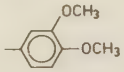
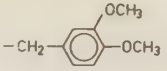
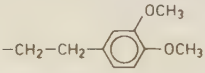
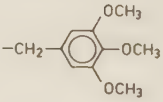
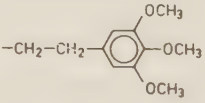
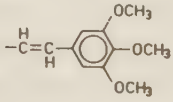
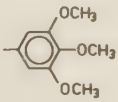


Tabelle 4



37 — 43

Subst. Nr.	R	Summenformel MG (MS)	Fp. (°C)
37		$C_{20}H_{22}N_2O_2$ HCl 322	262 (HCl-Salz)
38		$C_{21}H_{24}N_2O_2$ HCl 336	138 (Base) 262 (HCl-Salz)
39		$C_{22}H_{26}N_2O_2$ HCl 350	219 (HCl-Salz)
40		$C_{22}H_{26}N_2O_3$ 366	172 (Base)
41		$C_{23}H_{28}N_2O_3$ HCl 380	105 (Base) 240 (HCl-Salz)
42		$C_{23}H_{26}N_2O_3$ 378	175 (Base)
43		$C_{21}H_{24}N_2O_3$ 352	201 (Base)

Der Strukturbeweis für die gebildeten Amine erfolgte wieder auf spektroskopischem Wege. Die vollständige Reduktion der Amide wird durch das Fehlen der Amidbande im Infrarotspektrum bewiesen. Ferner wird die Struktur der Amine **37 - 43** durch Kernresonanz - und Massenspektren gestützt.

Die wichtigsten ^{1}H-NMR - Daten sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt.

Tabelle 5: Chemische Verschiebung in δ ppm

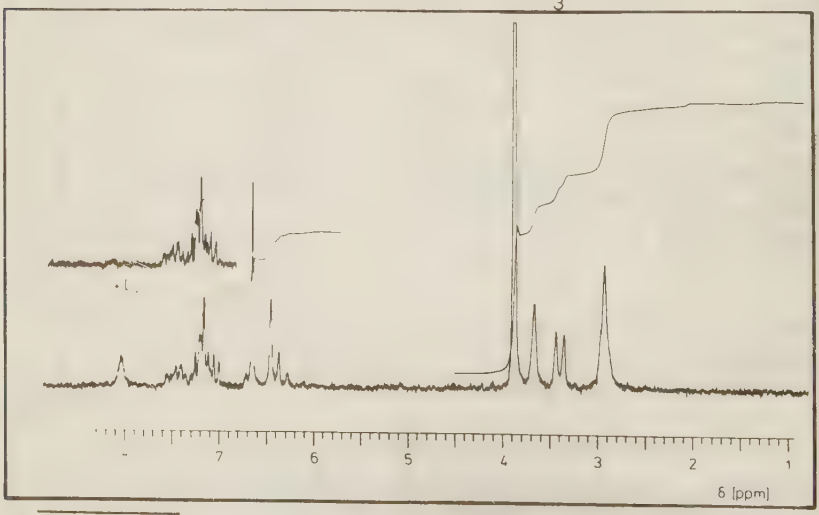
Subst. Lsgm.	der Prot. an C_3u.C_4	N-CH_2-	-CH_2-Ar	der Prot. an C_1	-OCH_3
37	s (breit)	s		s	s 3,74(3)
$CDCl_3$	2,8 (4)	3,4 (2)		3,6 (2)	s 3,81(3)
38	s (breit)	m		s	s
$CDCl_3$	2,8 (4)	2,7 - 3,0 (4)		3,6 (2)	3,85 (6)
39	s (breit)	m		s	s
$CDCl_3$	2,8 (4)	2,5 - 3,0 (4)		3,7 (2)	3,85 (6)
40	s (breit)	m		s	s
$CDCl_3$	2,8 (4)	2,7 - 3,0 (4)		3,6 (2)	3,8 (9)
41	s (breit)	m		s	s
$CDCl_3$	2,8 (4)	2,4 - 3,0 (4)		3,6 (2)	3,85 (9)
42	s (breit)	2Banden X-Teil des ABX_2-Syst. ^{3,4}(2)		s	s
$CDCl_3$	2,9 (4)			3,65 (2)	3,85 (9)
43	s (breit)		m		
DMSO-d_6	2,8 (4)		3,5 - 3,9 (13)		

Durch die Reduktion der Säureamidgruppe werden die chemischen Verschiebungen der Methylenprotonen an C_3 und C_4 fast gleich, so daß alle vier Protonen annähernd als Singulett erscheinen, das

A_2B_2 - System des unsubstituierten Tetrahydro-ß-carbolins (**30**) geht also näherungsweise in ein A_4 - System über. In den Spektren der Verbindungen **38** - **41** wird dieses Singulett bei 2,8 ppm von den Signalen der Methylenprotonen der Seitenkette, die durch ihre Nachbarschaft zum Stickstoff oder zum Aromaten ähnliche chemische Verschiebungen haben, überlagert.

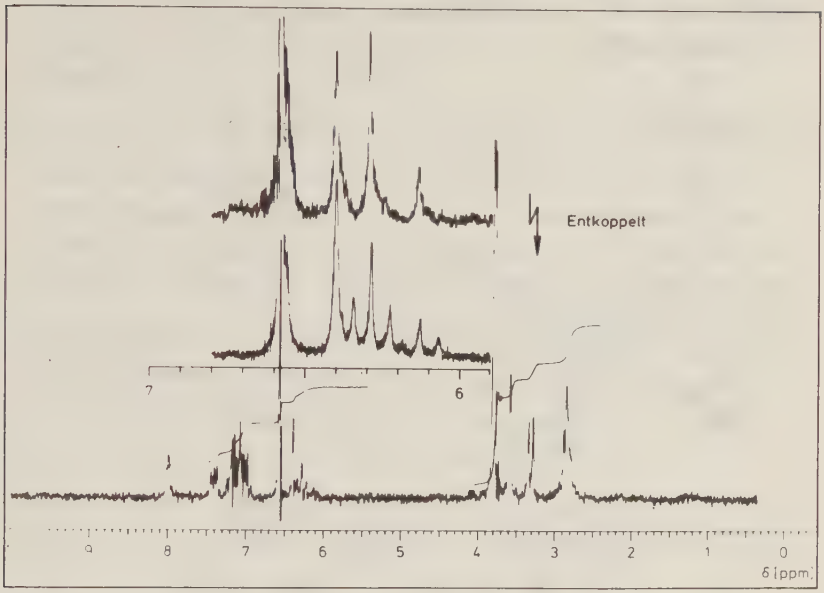
Um zu entscheiden, ob Verbindung **42** als cis- oder trans-Isomeres vorliegt, mußte wieder die Kopplungskonstante der beiden olefinischen Protonen ermittelt werden. Diese ist dem ^{1}H-NMR - Spektrum nicht direkt zu entnehmen, da die olefinischen Protonen mit der benachbarten Methylengruppe ein ABX_2 - Spektrum bilden. Durch Entkopplung der Methylengruppe wurde das Spektrum zum AB - System vereinfacht und die Kopplungskonstante konnte mit 16 Hz direkt abgelesen werden (siehe Abbildung 3 und 4). Die Auswertung des AB - Systems erfolgte nach Suhr [87].

Abb. 3 : ^{1}H-NMR - Spektrum von **42** in $CDCl_3$ (60 MHz)



87) Suhr,H.,vergl. 83) , S.57

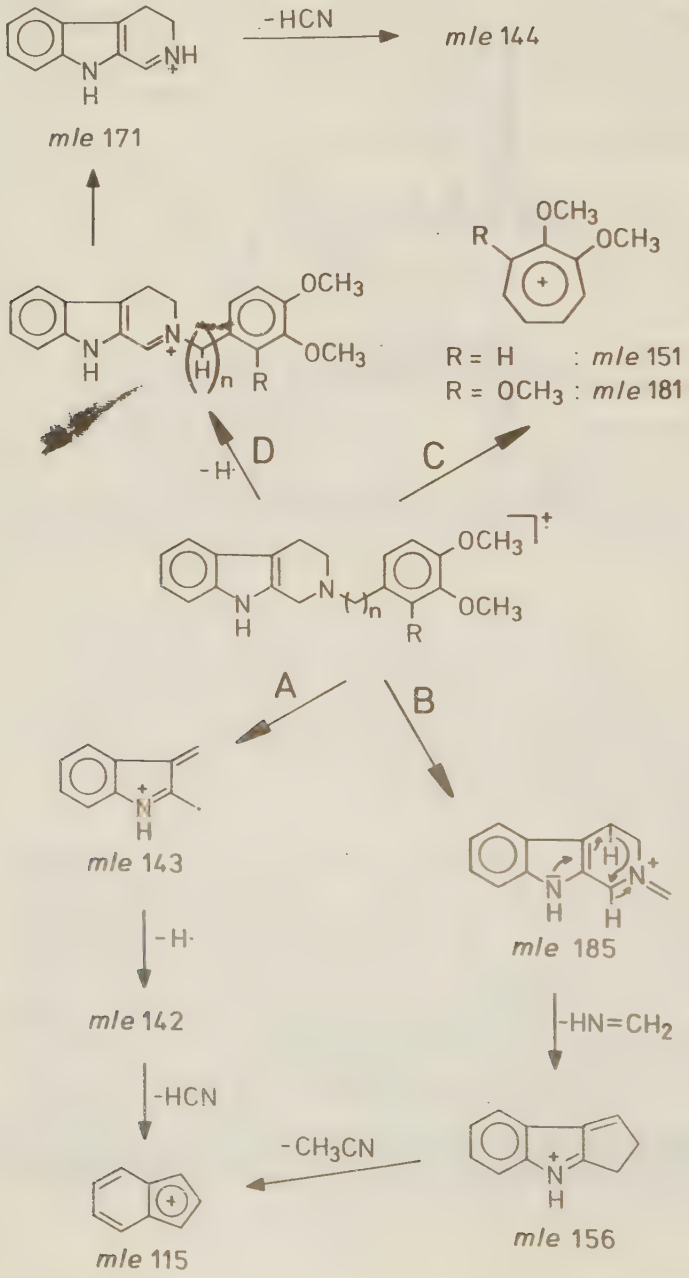
Abb. 4 : ^{1}H-NMR - Spektrum von **42** in $CDCl_3$ (100 MHz)



Der massenspektrometrische Abbau der Amine **37** - **43** ist im Schema 2 skizziert. Wie bei den Amiden entsteht durch Retro-Diels-Alder - Spaltung das Fragment m/e 143 und wird wie dort weiter abgebaut (Abbau A).

Wann immer eine ungehinderte Oniumspaltung nach dem Abbauweg B des Schemas möglich ist, also bei **38**, **39**, **40**, **41** , deren Seitenketten zwei oder drei CH_2 - Gruppen enthalten, erfolgt diese und führt zum Basispeak mit m/e 185, wenn die Seitenkette zwei CH_2 - Gruppen trägt (**38** und **40**), zu Peaks mit geringerer relativer Intensität, wenn diese drei Methylengruppen enthält (**39** und **41**). Aus diesem Fragment m/e 185 kann unter Abspaltung eines Bruchstücks mit der Masse 29 ($HN{=}CH_2$) ein Ion mit m/e 156 gebildet werden. Die metastabilen Peaks bei m/e 131,5 in den Spektren der

Schema 2 : Massenspektrometrischer Abbau der Amine **37 - 43**



Verbindungen **40** , **38** und **41** stützen diesen Abbauweg. Die Formulierung des Ions m/e 156 erfolgte analog Coutts [86] , wo ein solches Fragment für den Abbau von 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin beschrieben ist.

Sind Carbolin- und Di(Tri)-methoxyphenylrest über nur eine Methylengruppe verbunden (**37** und **43**), findet die Oniumspaltung nach B nicht statt, sondern es kommt neben der Retro-Diels-Alder - Spaltung (Basispeak bei m/e 143, Abbau A) bevorzugt zur Tropyliumspaltung (Abbau C), so daß die Ionen mit m/e 151 bzw. 181 entstehen.

Die Bildung des Fragments mit m/e 171, das im Spektrum von **41** den Basispeak bildet, kann durch Oniumspaltung und anschließende Oniumfolgewanderung erklärt werden. Wird aus diesem HCN abgespalten, entsteht das Ion mit m/e 144 (Abbauweg D).

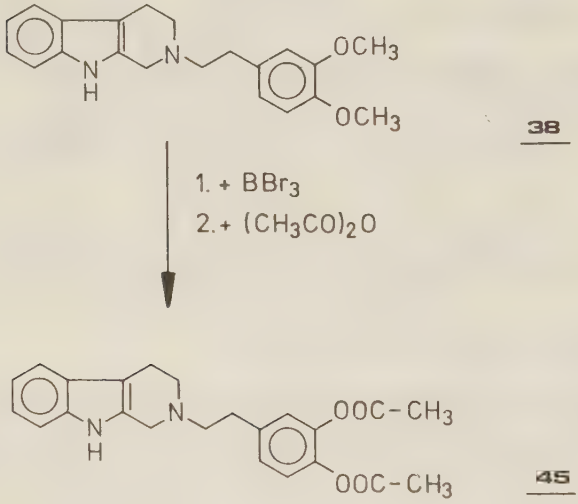
In Tabelle 6 sind alle Fragmente der Verbindungen **37** - **43** wiedergegeben, die mit größerer relativer Intensität als 15 % registriert wurden.

Tabelle 6: Relative Intensität von m/e (%)

Subst. Nr.	**37**	**38**	**39**	**40**	**41**	**42**	**43**
m/e							
171	18	5	35	5	100	28	40
143	100	27	100	22	85	100	100
144	20	10	20	11	22	29	20
185	---	100	14	100	14	5	---
156	---	47	17	70	17	11	---
zusätzlich m/e (%)	151 (26)	151 (13)				168(22) 176(19) 207(16)	181(40) 182(37)
metastabile m/e		131,5		131,5	131,5 76,9		

2.2.1.3. Darstellung und Eigenschaften von 2-(3,4-Diacetoxyphenyläthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**45**)

Aus **38** wurde durch Ätherspaltung und anschließende Acylierung **45** hergestellt. Hierzu wurde eine Lösung von **38** in Methylenchlorid unter Eiskühlung mit BBr_3 versetzt, um das entstehende Produkt mit Acetanhydrid zu verestern.



Die vollständige Veresterung wird durch das ^{1}H-NMR - Spektrum bewiesen: die Signale der Methoxygruppen sind verschwunden, dafür werden die Methyl-Protonen der Acetyl-Gruppen bei 2,25 ppm als Singulett registriert (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7 : ^{1}H-NMR - Daten (δ ppm) von **45** (Lösungsmittel $CDCl_3$)

Chemische Verschiebung

-O-CO-CH_3	der Prot.an C_3 und C_4	-N-CH_2-CH_2-	der Prot.an C_1	arom.Prot.
s 2,25 (6)	s (breit) 2,85 (8)		s 3,6 (2)	m 6,9-7,5(7)

Im Massenspektrum von **45** erscheinen wie im Spektrum der Ausgangssubstanz **38** die Ionen m/e 185, m/e 156 und der zu diesen gehörende metastabile Peak bei m/e 131,5 (Schema 2 Abbauweg B). Die relative Intensität beträgt für m/e 185 100 % und für m/e 156 40%. Die für Acetylgruppen typischen Abbauprodukte mit m/e 43 und m/e 42 sind mit einer relativen Intensität von 42 % und 30 % registriert.

Im IR - Spektrum erscheint die Estercarbonylbande bei 1760 cm^{-1} (aufgenommen in KBr).

Damit kann die Struktur von **45** als gesichert angenommen werden.

2.2.2. ANLAGERUNG von ÄTHYLENOXID und anschließende VERESTERUNG des entstandenen AMINOALKOHOLS

Ashan und Linell [81] beschreiben die Anlagerung von Propylenoxid an Tetrahydro-ß-carbolin (**30**) und die Veresterung des entstehenden Aminoalkohols mit 3,4,5-Trimethoxybenzoylchlorid

Andererseits wird die Herstellung von **46** aus der Base **30** und der Alkylhalogenid-Verbindung, dem 2-Chloräthyl-3,4,5-trimethoxybenzoat, von Frangatos [88] und einer amerikanischen Patentschrift [89]

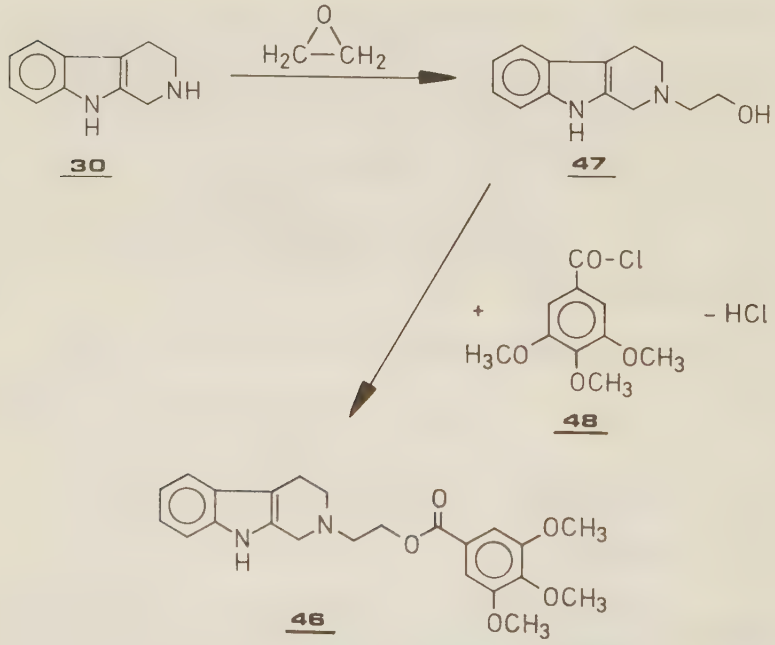
88) Frangatos,G., Kohan,G. und Chubb,F.L.,Can.J.Chem. 38 1082 (1960)

89) Robinson,R.A., US 285 2520 (1958) ref.: C.A. 53 4317 b

angeführt.

Mir gelang die Synthese von **46** über das 2-(2-Hydroxyäthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**47**), das nach einer allgemeinen Vorschrift zur Darstellung von ß-Dialkylaminoäthanolen [90] aus **30** und Äthylenoxid in Methanol in der Kälte gebildet wurde.

Die anschließende Veresterung von **47** mit 3,4,5-Trimethoxybenzoylchlorid (**48**) in Pyridin führte zu **46** .

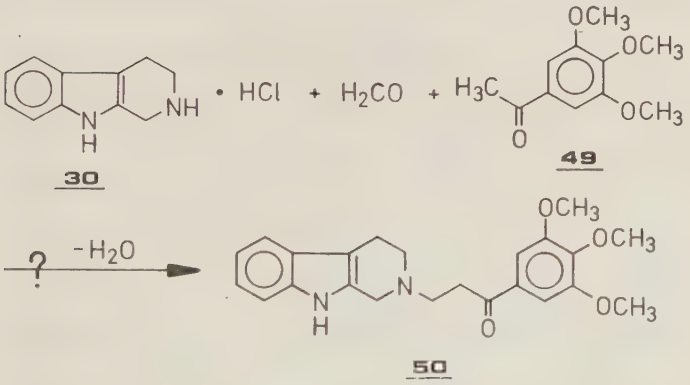


Der Schmelzpunkt von **46** entspricht den Literaturangaben. Darüberhinaus stützen die Daten von ^{1}H-NMR -,IR -und Massenspektren die Struktur.

90) Rohrmann,E.und Shonle,H.A.,J.Am.Soc. 66 1641 (1944) in: Houben-Weyl-Müller, XI/1 312,Methoden der organischen Chemie, 4.Aufl.Georg Thieme Verlag Stuttgart (1958)

2.2.3. AMIN - AMIN AUSTAUSCH

L. Scheljaskov u.a. [8] berichten über durchgeführte Mannichkondensationen mit 7-Methoxy-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin als Stickstoffkomponente, Formaldehyd und Cyclohexanon als CH-acider Komponente. Es sollte nun die Verbindung **50** durch Mannichkondensation aus dem unsubstituierten Tetrahydro-ß-carbolinhydrochlorid, Formaldehyd und 3,4,5-Trimethoxyacetophenon (**49**) dargestellt werden. Die Reaktionsbedingungen wurden wiederholt variiert, jedoch konnte **50** nicht aus den jeweiligen Reaktionsgemischen isoliert werden.



30 **49** **50**

Dagegen gelang leicht die Mannichkondensation mit Dimethylaminhydrochlorid, Paraformaldehyd und Trimethoxyacetophenon (**49**) in absolutem Äthanol bei saurem ph [91]. Durch Umaminierung dieses Mannichsalzes **51** entstand in guter Ausbeute Verbindung **50**. Hierzu wurden **51** und **30** unter Zusatz von p-Toluolsulfonsäure in Xylol am Rückfluß erhitzt. Nach beendigter Reaktion wurde filtriert und aus der Base **50** in üblicher Weise das Hydrochlorid hergestellt.

91) Haggett,E. und Archer,S., J.Am.Chem.Soc. 71 2255 (1949)

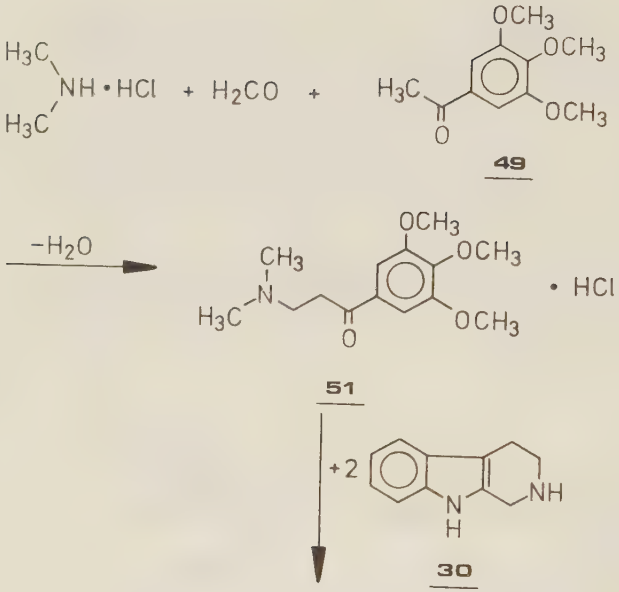
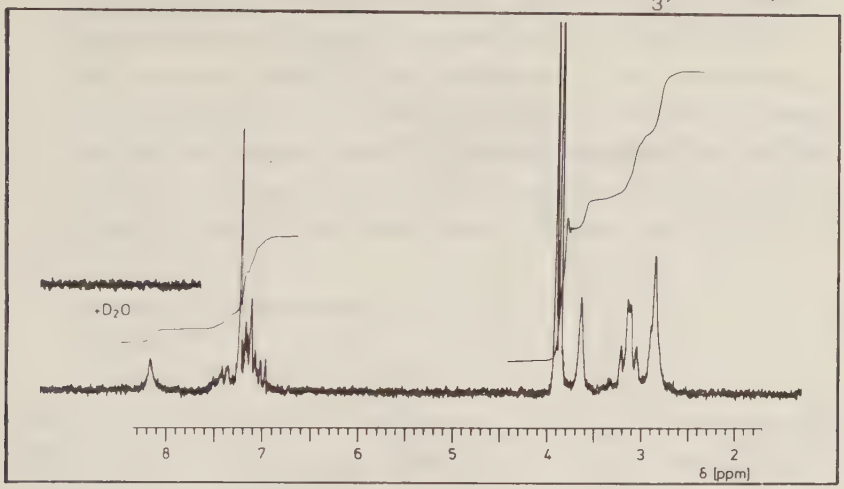

H3C
NH • HCl
H3C
+ H2CO +
OCH3
OCH3
H3C
OCH3
O
49
−H2O
CH3
N
H3C
OCH3
OCH3
OCH3
O
• HCl
51
+2
NH
N
H
30
OCH3
OCH3
N
N
H
OCH3
O
50
+
NH
N
H
• HCl +
H3C
NH
H3C

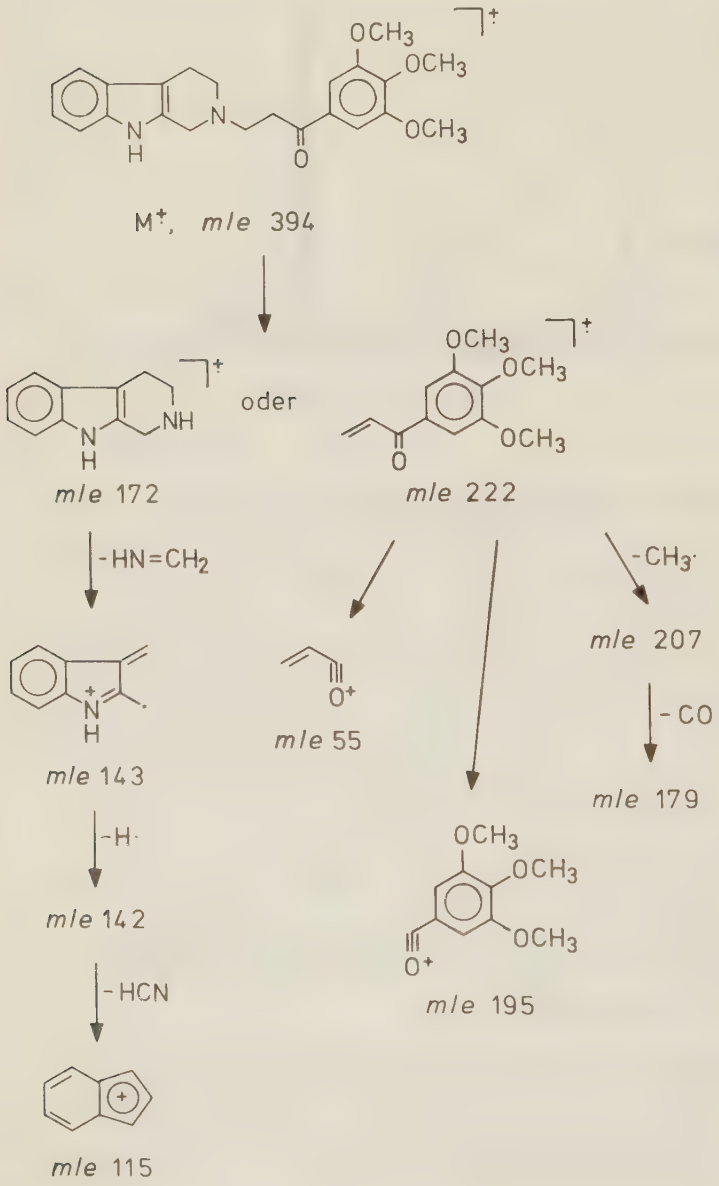
Abbildung 5: ^{1}H-NMR - Spektrum von **50** (in $CDCl_3$, 60 MHz)



Im ^{1}H-NMR - Spektrum von **50** erscheinen die Signale der Methylenprotonen an C_3 und C_4 des Carbolin-Systems wie bei den Verbindungen **37** - **43** als breites Singulett bei 2,8 ppm. Die Methylenprotonen der Seitenkette bilden ein A_2B_2 - System und erscheinen bei 2,9 - 3,3 ppm. Die chemische Verschiebung beträgt für die der Carbonylgruppe benachbarten Protonen ν_a = 3,3 ppm und für die dem Stickstoff benachbarten Protonen ν_b = 3,03 ppm (berechnet nach Suhr [83]). Die Kopplungskonstante J_{ab} wurde mit 5,5 Hz ermittelt. Das Signal bei 3,62 ppm ist den Protonen am C_1 zuzuordnen, die Banden bei 3,85 und 3,9 ppm den Methoxygruppen, und schließlich findet man bei 6,9 - 7,5 ppm die insgesamt 6 aromatischen Protonen, wobei das Singulett bei 7,2 ppm den aromatischen Protonen der Seitenkette zuzuordnen ist. Das Proton am Indolstickstoff ist gegen D_2O austauschbar und wird bei 8,2 ppm registriert.

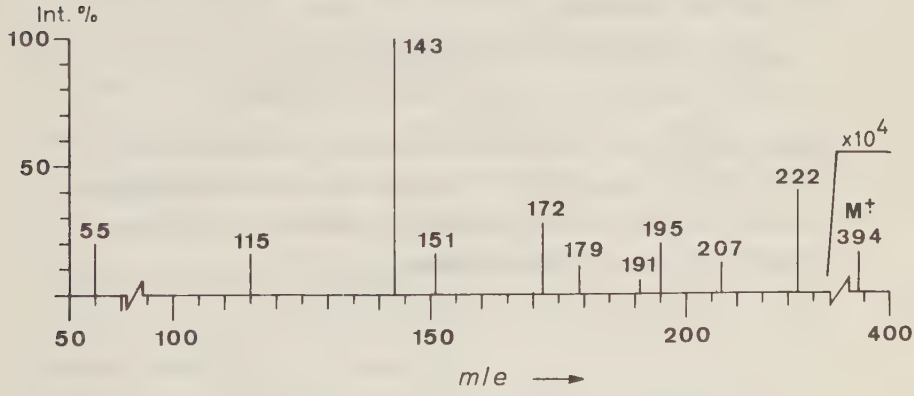
Im Massenspektrum von **50** (siehe Abbildung 6) tritt der Molekülpeak mit nur sehr geringer Intensität auf, da das Molekül analog einer 'Hofmann' - Eliminierung in die Base (m/e 172) und das Vinylketon (m/e 222) zerfällt (siehe Schema 3). Es sind die Abbau-

Schema 3 : Massenspektrometrischer Abbau von **50**



produkte beider Bruchstücke zu finden. Die Entstehung des Basispeaks m/e 143 aus dem Carbolin - Teil durch Retro-Diels-Alder - Spaltung und der weitere Abbau zu m/e 115 ist von den schon beschriebenen Tetrahydro-ß-carbolin - Derivaten her bekannt (siehe Schema 1, Abbauweg A). Aus dem Vinylketon können durch Oniumspaltung die Ionen m/e 55 und m/e 195 entstehen, durch Abspaltung von $CH_3^{\cdot}$ ein Bruchstück mit m/e 207 und hieraus durch CO - Abspaltung das Ion m/e 179.

Abbildung 6 : Massenspektrum von **50**



2.3. Experimenelller Teil

Allgemeine Angaben

Schmelzpunkte: Die Schmelzpunkte wurden mit einem Linström - Gerät bestimmt und sind unkorrigiert angegeben.

Elementaranalysen: Die Elementaranalysen wurden im Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin ausgeführt.

Massenspektren: Sämtliche Massenspektren wurden mit einem CH 7 Varian Mat Gerät ermittelt.

IR - Spektren: Die Infrarot - Absorptionsspektren wurden mit einem Perkin- Elmer Spektralphotometer 237 und 421 gemessen.

^{1}H-NMR-Spektren: Die Aufnahme der Kernresonanzspektren erfolgte mit den Varian - Geräten A 60, T 60 und XL 100 unter Verwendung von Tetramethylsilan als innerem Standard. Die chemische Verschiebung ist in ppm nach der δ - Skala angegeben.

2-(3,4-Dimethoxy)-benzoyl-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**31**)

5 g (0,029 Mol) **30** [+] werden durch Erwärmen in 400 ccm trockenem Benzol gelöst, 10 g trockenes Na_2CO_3 zugegeben und unter Rühren eine Lösung von 5 g (0,025 Mol) 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid in 50 ccm Benzol langsam zugetropft. Anschließend werden nochmals 5 g Na_2CO_3 zugefügt und die Mischung wird 5 Std. am Rückfluß gekocht. Danach wird filtriert und die Lösung etwa um die Hälfte eingeengt. Hieraus scheiden sich allmählich helle Kristalle ab. Der Rückstand der Filtration wird mit 150 ml Wasser suspendiert, mit HCl angesäuert, bei 50 °C 1/2 Std. gerührt, filtriert und der ungelöste Rest mit Wasser gewaschen. Dieser (5,5 g) wird zusammen mit den aus der Lösung erhaltenen Kristallen dreimal aus Äthanol umkristallesiert. Man erhält 6,5 g **31**.

AUSBEUTE: 77 % der Theorie. Weiße Kristalle, Fp. 188 °C

$C_{20}H_{20}N_2O_3$ (336,26) Ber.: N 8,33 C 71,44 H 5,95
Gef.: N 8,33 C 71,40 H 6,17

MASSENSPEKTRUM: M^+ 336 (86) 165 (100) 143 (50) 171 (45) 155 (20) 144 (17) 137 (10) 77 (10) m/e (%)

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,6 (1) austb. N-H, m 7,5 - 6,6 (7) arom.H,
$CDCl_3/D_2O$ s 4,2 (2) H an C_1, br. t 2,8 (2) J = 5 Hz H an C_4,
s 3,8 (6) O-CH_3, br. t 3,75 (2) H an C_3.

IR (cm^{-1}) KBr : 3380, 3250, 3190, 3000, 2930, 2830, 1600, 1570, 1510, 1420, 1260, 1220, 1170, 1125, 1015, 860, 810, 740.

[+]) hergestellt nach [78], lediglich die Reaktionszeit bei der Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid wurde auf drei Stunden Kochen am Rückfluß verkürzt.

2-(3,4-Dimethoxyphenylacetyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**32**)

Eine Lösung von 3,42 g (0,02 Mol) **30** in 300 ccm gereinigtem Chloroform wird mit 3 g Na_2CO_3 versetzt und unter Rühren langsam eine Lösung von 6,6 g (0,03 Mol) 3,4-Dimethoxyphenacylchlorid in 30 ccm Chloroform zugegeben. Die Mischung wird über Nacht gerührt. Nach der Filtration wird das Filtrat mit 1 % iger Natronlauge, mit Wasser, mit 1 % iger Salzsäure und wieder mit Wasser gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird einmal aus Benzol, dann aus Acetonitril umkristallisiert. Man erhält 5,6 g **32** .

AUSBEUTE: 80 % der Theorie Weiße Kristalle, Fp.: 185°C

$C_{21}H_{22}N_2O_3$ (350,42) Ber.: C 71,98 N 7,99 H 6,33
Gef.: C 71,90 N 8,11 H 6,17

MASSENSPEKTRUM: M^+ 350 (46) 143 (100) 151 (66) 170 (65) 169 (56) 171 (42) 168 (37) 178 (30) 212 (25) 144 (25) 199 (20) m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 10,7 (1) austb. N-H, m 6,5 - 7,5 (7) arom.H, DMSO-d_6/ D_2O s 4,7 (2) H an C_1, s 3,75 (6) O-CH_3, s 3,78 (2) CO-CH_2, br. t 3,8 (2) H an C_3, br. t 2,7 (2) H an C_4.

IR (cm^{-1}) KBr : 3230, 2990, 2960, 2920, 2830, 1615 s 1625, 1580, 1500, 1455, 1300, 1250, 1225, 1210, 1150, 1130, 1020, 880, 860, 780, 710, 680.

2-[3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-propionyl]-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**33**)

Entsprechend der Vorschrift für **32** wird **33** hergestellt aus: 2,3 g (0,01 Mol) 3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-propionylchlorid, 3,1 g (0,018 Mol) **30** , 250 ccm Chloroform ohne Zusatz von Na_2CO_3.

AUSBEUTE: 2,6 g ≙ 79 % der Theorie

Weiße Kristalle (Benzol) Fp.: 171 °C , $C_{22}H_{24}N_2O_3$ (364,45)

MASSENSPEKTRUM: M^+ 364 (90) 213 (100) 143 (64) 171 (50) 151 (38) 144 (28) 156 (24) 169 (21) m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,2 (1) austb. N-H, m 7,0 - 7,6 (4) H an C_{5-8}, br. s 6,75 (3) arom. H, s 4,8 (2) H an C_1, s 3,8 (6) O-CH_3, br.t 3,8 (2) H an C_3, m 2,6 - 3,1 (6) H an C_4 + CO-CH_2-CH_2-.

$CDCl_3$/ D_2O

IR (cm^{-1}) KBr: 3230, 2980, 2960, 2930, 2830, 1610 s 1625, 1580, 1440, 1430, 1300, 1250, 1225, 1210, 1150, 1130, 1020, 890, 790, 740, 680.

2- (3,4,5-Trimethoxyphenacyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**34**)

Herstellung analog der Synthese von **32** :
2,2 g (0,013 Mol) **30**, 3,6 g (o,015 Mol) 3,4,5-Trimethoxyphenacylchlorid, 3g K_2CO_3, 200 ccm Chloroform.

AUSBEUTE: 3,3 g ≙ 68 % der Theorie
Weiße Kristalle (Äthanol) Fp.: 176 °C

$C_{22}H_{24}N_2O_4$ (380,45) Ber.: C 69,46 H 6,36 N 7,36
Gef.: C 69,60 H 6,55 N 7,29

MASSENSPEKTRUM: M^+ 380 (38) 143 (100) 181 (61) 171 (60) 170 (54) 169 (46) 115 (32) 144 (30) 168 (28) 156 (25) 208 (23) 199 (19) 212 (15) 193 (15) m/e (%)

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,9 (1) austb. N-H, m 7,0 - 7,6 (4) H an C_{5-8}, s 6,5 (2) arom.H, s 4,8 (2) H an C_1, br.t 2,7 (2) J = 5 Hz H an C_4, s 3,6 (2) CO-CH_2, s 3,8 (9) O-CH_3, br.t 3,8 (2) H an C_3.

$CDCl_3$/ D_2O

IR (cm^{-1}) KBr: 3380, 3210, 2930, 1615 s 1625, 1580, 1500, 1455, 1415, 1325, 1230, 1220, 990, 790, 740.

2-[3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-propionyl]-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**35**)

11,9 g (0,05 Mol) 3,4,5-Trimethoxyzimtsäure und 2 g (0,05 Mol) NaOH werden in 20 ccm Wasser gelöst, etwa 1 g Raney-Nickel - Katalysator zugegeben, um bei Raumtemperatur in ca. 20 Stunden vollständig zu hydrieren. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wird mit verdünnter HCl angesäuert und das ausgefallene Produkt abgesaugt und gewaschen. Man erhält 11,2 g Dihydro-3,4,5-trimethoxyzimtsäure. Aus dieser wird analog [92] das Säurechlorid hergestellt.

Die Synthese von **35** verläuft analog der Synthese von **32**:
3,42 g (0,02 Mol) **30**, 3 g Na_2CO_3, 7,7 g Dihydro-3,4,5-trimethoxycinnamoylchlorid, 300 ccm Chloroform.

AUSBEUTE: 5,1 g ≙ 65 % der Theorie
Weiße Kristalle (Benzol) Fp.: 148 °C

$C_{23}H_{26}N_2O_4$ (394,47) Ber.: C 70,03 H 6,64 N 7,10
Gef.: C 69,98 H 6,58 N 6,98

MASSENSPEKTRUM: M^+ 394 (65) 171 (100) 213 (69) 143(67) 78 (63) 181(30) m/e (%)

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,6 (1) austb. N-H, m 7,0 - 7,6 (4) H an C_{5-8},
$CDCl_3$/ D_2O s 6,5 (2) arom. H, s 4,8 (2) H an C_1, s 3,8 (9) O-CH_3, br.t 3,8 (2) H an C_3, m 2,6 - 3,1 (6) H an C_4 + CO-CH_2-CH_2.

IR (cm^{-1}) KBr: 3250, 2930, 2845, 1610 s 1630, 1580, 1500, 1455, 1445, 1410, 1330, 1300, 1240, 1205, 1120, 1140, 1000, 810, 740.

92) Weygand, C., Hilgetag, G., Organische Experimentierkunst, 249, 4. Aufl. Johann Ambrosius Barth, Leipzig (1970).

2-(3,4,5-Trimethoxycinnamoyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**36**)

36 wird entsprechend der Vorschrift für **31** hergestellt aus: 2,2 g (0,15 Mol) **30**, 3,3 g (0,013 Mol) 3,4,5-Trimethoxycinnamoylchlorid [93], 5 g und 2,5 g Na_2CO_3 in 300 ccm Benzol. Es wird einmal aus Benzol, dann aus Acetonitril umkristallisiert.

AUSBEUTE: 4,1 g ≙ 81 % der Theorie, weiße Kristalle, Fp.: 198 °C

$C_{23}H_{24}N_2O_4$ (392,46) Ber.: C 70,39 H 6,16 N 7,14
Gef.: C 70,01 H 6,18 N 7,11

MASSENSPEKTRUM: M^+ 392 (56) 171 (100) 222 (94) 168 (75) 179 (66) 143 (63) 169 (50) 191 (50) 194 (28) m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,8 (1) austb. N-H, m 7,0 - 7,6 (4) H an C_{5-8}, $CDCl_3$/ D_2O s 6,77 (2) arom. H, AB-System 7,7 (1) =CH-Ar u. 6,9 (1) CO-CH= J = 16 Hz, s 4,9 (2) H an C_1, br. t 3,9 (2) J = 5,5 Hz H an C_3, s 3,85 (9) O-CH_3, br. t 2,85 (2) J = 5,5 Hz H an C_4.

IR (cm^{-1}) KBr: 3230, 2925, 1640, 1580, 1500, 1440, 1410, 1335, 1310, 1260, 1240, 1205, 1120, 1050, 1000, 960, 810, 740.

2-(3,4-Dimethoxybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolinhydrochlorid(**37**)

Reduktion von **31** mit Lithiumaluminiumhydrid:

1,7 g (0,005 Mol) **31** werden in 50 ccm trockenem Tetrahydrofuran gelöst und tropfenweise zu einer Mischung von 1,5 g Lithiumaluminiumhydrid in 150 ccm trockenem Tetrahydrofuran unter Rühren und Kühlen zugegeben. Nach dreistündigem Kochen am Rückfluß unter Feuchtigkeitsausschluß wird das überschüssige Lithiumaluminiumhydrid

93) U.S. Patent 3.268 407 ref.: C.A. 16908

durch tropfenweise Zugabe von Wasser unter gleichzeitiger Eiskühlung zerstört. Eine Stunde wird weitergerührt (Raumtemperatur), dann filtriert, der Rückstand nachgewaschen und Filtrat und Waschflüssigkeit zur Trockne eingedampft. Man erhält eine hellgelbe ölige Flüssigkeit, die mit einigen Tropfen Äther über Nacht kristallin wird. Diese wird in Äthanol aufgenommen und mit äthanolischer Salzsäure bis zur sauren Reaktion versetzt. Die nach einigen Stunden ausgefallenen Kristalle werden abgesaugt und aus Äthanol/Wasser (1:1) umkristallisiert.

AUSBEUTE: 1,5 g ≙ 85 % der Theorie, weiße Kristalle, Fp.: 262 °C

$C_{20}H_{22}N_2O_2$ (358,88) Ber.: C 66,94 H 6,46 N 7,81
·HCl (322,42 ·HCl) Gef.: C 66,80 H 6,52 N 7,81

MASSENSPEKTRUM: M^+ 322 (5) 143 (100) 151 (26) 171 (18) 144 (20) m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,9 (1) austb. N-H, m 6,7 - 7,6 (7) arom. H,
$CDCl_3$/ D_2O s 3,81 (3) O-CH_3, s 3,74 (3) O-CH_3, s 3,6 (2) H
(freie Base) an C_1, s 3,4 (2) N-CH_2-Ar, br. s 2,8 (4) H an $C_{3,4}$.

IR (cm^{-1}) KBr: 3380, 3140, 3050, 2930, 2900, 2830, 2800, 1585, 1455, 1410, 1270, 1255, 1230, 1150.

2-(3,4-Dimethoxyphenyläthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**38**)

38 wird durch Reduktion von **32** analog der unter **37** angegebenen Vorschrift erhalten. 6 g **32** werden mit 4,5 g Lithiumaluminiumhydrid in 400 ccm Tetrahydrofuran durch dreistündiges Kochen am Rückfluß reduziert. Die freie Base wird aus Äthanol/Wasser (1:1) umkristallisiert.

AUSBEUTE: 4,8 g ≙ 85 % der Theorie
weiße blattförmige Kristalle, Fp.: 138 °C

$C_{21}H_{24}N_2O_2$ (366,44) Ber.: N 8,33 Gef.: 8,32

MASSENSPEKTRUM: M^+ 336 (5) 185 (100) 156 (47) 143 (27) 151 (13) 186 (12) 144 (10) m 131,5 m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,3 (1) austb. N-H, m 6,9 - 7,5 (5) H an C_{5-8} u. 1 arom. H, s 6,75 (2) arom. H, s 3,8 (6) -O-CH_3, s 3,6 (2) H an C_1, m 2,7 - 3,0 (4) N-CH_2-CH_2-Ar, br. s 2,8 (4) H an $C_{3,4}$.

Hydrochlorid weiße Kristalle, Fp.: 262 °C (Methanol)

$C_{21}H_{24}N_2O_2$ HCl (372,9) Ber.: C 67,64 H 6,76 N 7,51
Gef.: C 67,75 H 6,75 N 7,68

IR (cm^{-1}) KBr: 3380, 2930, 2810, 1580, 1500, 1445, 1325, 1255, 1230, 1150, 1130, 1020, 795, 730.

2-(3,4-Diacetoxyphenyläthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**45**)

Zu 2,5 g **38** (0,0075 Mol) in 250 ccm Methylenchlorid werden bei einer Temperatur von -15 °C 15 g BBr_3 zugetropft. Man läßt die Mischung unter Rühren langsam auf Raumtemperatur erwärmen. Nach zwei Tagen wird das ausgeschiedene Produkt abgesaugt, mit Methylenchlorid gewaschen, im Vakuum getrocknet, mit 10 ccm Acetanhydrid übergossen und 15 Stunden stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wird abfiltriert, kurz mit kaltem Aceton gewaschen, in Chloroform aufgenommen, mit 10 % iger Natriumbicarbonatlösung ausgeschüttelt und mit Wasser nachgewaschen. Die organische Phase wird getrocknet anschließend im Vakuum das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand aus Benzol unter Zusatz von neutralem Aluminiumoxid umkristallisiert.

AUSBEUTE: 1,9 g ≙ 65 % der Theorie
Weiße Kristalle, Fp.: 149 °C

$C_{23}H_{24}N_2O_4$ (392,46) Ber.: C 70,39 H 6,16 N 7,14
Gef.: C 70,60 H 6,19 N 7,04

MASSENSPEKTRUM: M^+ 392 (7) 185 (100) 43 (42) 156 (40) 143 (38) 42 (30) m 131,5 m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,0 (1) austb. N-H, m 6,9 - 7,5 (7) arom.H, $CDCl_3$/ D_2O s 3,6 (2) H an C_1, br. s 2,85 (8) H an $C_{3,4}$ u. N-CH_2-CH_2-, s 2,25 (6) CO-CH_3.

IR (cm^{-1}) KBr: 3400, 3135, 3065, 2935, 2925, 2890, 2840, 1760, 1500, 1465, 1425, 1250, 1210, 1195, 1175, 1100, 1000, 880, 740.

2-[3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-propyl]-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin-hydrochlorid (**39**)

3 g **33** werden mit 2,5 g Lithiumaluminiumhydrid in 250 ccm Tetrahydrofuran entsprechend der Vorschrift für **37** in drei Stunden reduziert. Das Hydrochlorid wird aus Methanol umkristallisiert.

AUSBEUTE: 2,8 g ≙ 88 % der Theorie, weiße Kristalle, Fp.: 219 °C

$C_{22}H_{26}N_2O_2$ HCl (350,46 + HCl = 386,93) Ber.: C 68,29 H 7,03 N 7,24
Gef.: C 68,40 H 7,02 N 7,18

MASSENSPEKTRUM: M^+ 350 (18) 143 (100) 171 (35) 156 (17) 144 (20) 185(14) m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,2 (1) austb. N-H, m 7,0 - 7,65 (4) H an C_{5-8}, $CDCl_3$/ D_2O br. s 6,8 (3) arom. H, s 3,85 (6) -OCH_3, s 3,7 (2) H an C_1, br. s 2,8 (4) H an $C_{3,4}$, m 2,5 - 3,0 (4) N-$\underline{CH_2}$-CH_2-$\underline{CH_2}$-Ar, m 1,65 - 2,2 (2) -CH_2-$\underline{CH_2}$-CH_2.

Für das ^{1}H-NMR - Spektrum wird die Base in üblicher Weise aus dem Hydrochlorid freigemacht und aus Benzol/Petroläther umkristallisiert.

IR (cm^{-1}) KBr: 3230, 2930, 2580, 1580, 1500, 1455, s 1440, 1330, 1260, HCl-Salz 1230, 1150, 1135, 1020, 710, 745, 735.

2-(3,4,5-Trimethoxyphenyläthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**40**)

1,9 g **34** werden mit 1,5 g Lithiumaluminiumhydrid in 200 ccm Tetrahydrofuran wie unter **37** angegeben in zwei Stunden zu **40** reduziert. Die Base wird aus Äthanol/ Wasser umkristallisiert.

AUSBEUTE: 1,6 g ≙ 88 % der Theorie, weiße Kristalle, Fp.: 172 °C

$C_{22}H_{26}N_2O_3$ (366,46) Ber.: C 72,11 H 7,15 N 7,64
Gef.: C 72,27 H 7,25 N 7,65

MASSENSPEKTRUM: M^+ 366 (8) 185 (100) 156 (70) 143 (22) 144 (11) m 131,5 m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,4 (1) austb. N-H, m 6,95 - 7,55 (4) H an C_{5-8}, $CDCl_3$/ D_2O s 6,4 (2) arom. H, s 3,65,(2) H an C_1, s 3,8 (9) $-OCH_3$, m 2,7 - 3,1 (4) $N-CH_2-CH_2-Ar$, br. s 2,8 (4) H an $C_{3,4}$.

IR (cm^{-1}) KBr: 3380, 3140, 3070, 2950, 2935, 2900, 2825, 1580, 1500, 1445, 1455, 1410, 1325, 1300, 1230, 1175, 1120, 1000, 820, 800, 730.

2-[3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-propyl]-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**41**)

Eine Lösung von 3 g **35** in 50 ccm Tetrahydrofuran wird zu einer Mischung von 2,5 g Lithiumaluminiumhydrid in 200 ccm trockenem Äther zugetropft, drei Stunden am Rückfluß gekocht und wie unter **37** angegeben weiter verfahren. Um das Hydrochlorid herzustellen, muß die äthanolische Lösung der Base mit ätherischer Salzsäure angesäuert werden.

AUSBEUTE: 2,5 g ≙ 87 % der Theorie, weiße Kristalle, Fp.: 105 °C (Base)

MASSENSPEKTRUM: M^+ 380 (60) 171 (100) 143 (85) 144 (22) 156 (17) 185 (14) m/e (%).

$C_{23}H_{28}N_2O_3$ (380,49) Ber.: N 7,36 Gef.: N 7,33

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,4 (1) austb. N-H, m 7,0 - 7,6 (4) H an C_{5-8},
$CDCl_3$/ D_2O s 6,4 (2) arom. H, s 3,8 (9) -OCH_3, s 3,6 (2) H an C_1, m 2,4 - 3,0 (4) N-$\underline{CH_2}$-CH_2-$\underline{CH_2}$-Ar, br. s 2,8 (4) H an $C_{3,4}$, m 1,65 - 2,2 (2) -$\underline{CH_2}$-CH_2-Ar.

IR (cm^{-1}) KBr: 3380, 3150, 2940, 2750, 1580, 1500, 1460, 1450, 1440, 1420, 1320, 1230, 1120, 1000, 820, 740, 660.

Hydrochlorid Weiße Kristalle Fp.: 240 °C

$C_{23}H_{28}N_2O_3$ HCl (416,95) Ber.: C 66,26 H 7,01 N 6,72
Gef.: C 66,35 H 7,10 N 6,81

2-(3,4,5-Trimethoxycinnamyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**42**)

1,4 g **36** in 120 ccm Tetrahydrofuran werden analog der Herstellung von **37** zur Mischung von 1 g Lithiumaluminiumhydrid und 100 ccm Äther zugetropft und weiterverarbeitet. (Reaktionszeit: 2 Stunden). Die Base wird aus Äthylacetat umkristallisiert.

AUSBEUTE: 1,1 g ≙ 82 % der Theorie, weiße Kristalle, Fp.: 175 °C

$C_{23}H_{26}N_2O_3$ (378,48) Ber.: C 72,99 H 6,92 N 7,40
Gef.: C 72,82 H6,94 -N 7,32

MASSENSPEKTRUM: M^+ 378 (17) 143 (100) 171 (28) 168 (22) 176 (19) 107 (16) 115 (15) 184 (13) 208 (12) 156 (11) m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,0 (1) austb. N-H, m 7,0 - 7,6 (4) Han C_{5-8},
$CDCl_3$/ D_2O s 6,65 (2) arom. H, AB-Teil des ABX_2-Systems 6,0- - 6,7 (2) $\nu_{=CH-Ar}$: 6,3 $\nu_{C-CH=}$ 6,5 J = 16 Hz, s 3,8 (9) -OCH_3, s 3,65,(2) H an C_1, X-Teil des ABX_2-systems 3,4 (2) N-CH_2-, br. s 2,9 (4) H an $C_{3,4}$.

IR (cm^{-1}) KBr: 3380, 2930, 2890, 2830, 1580, 1500, 1450, 1410, 1325, 1235, 1120, 985, 955, 810, 780, 725, 730, 650.

2-(3,4,5-Trimethoxybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**43**)

3 g 2-(3,4,5-Trimethoxybenzoyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**44**)[81] werden mit 2,5 g Lithiumaluminiumhydrid in 300 ccm Tetrahydrofuran analog der Herstellung von **37** in drei Stunden zu **43** reduziert. Die Base wird aus Äthanol umkristallisiert.

AUSBEUTE: 2,5 g ≙ 85 % der Theorie, weiße Kristalle, Fp.: 201 °C

$C_{21}H_{24}N_2O_3$ (352,44) Ber.: C 71,57 H 6,86 N 7,95
Gef.: C 71,31 H 6,98 N 7,87

MASSENSPEKTRUM: M^+ 352 (2) 143 (100) 171 (40) 182 (40) 181 (37) 144 (20) m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 10,5 (1) austb. N-H, m 6,9 - 7,5 (4) H an C_{5-8},
DMSO-d_6 / D_2O s 6,7 (2) arom. H, m 3,5 - 3,9 (13) H an C_1 und N-CH_2-Ar und -OCH_3, br. s 2,8 (4) H an $C_{3,4}$.

IR (cm^{-1}) KBr: 3380, 3060, 3000, 2935, 2890, 2835, 1585, 1500, 1455, 1415, 1390, 1340, 1320, 1245, 1020, 990, 830, 795, 735, 685, 650.

2-(1,2,3,4-Tetrahydro-ß-carbolinyl-2)-äthyl-3,4,5-trimethoxybenzoat (**46**)

In der in [90] angegebenen Weise werden 700 mg Äthylenoxid und 2 g **30** in 30 ccm absolutem Methanol gelöst und über Nacht stehengelassen. Das Lösungsmittel wird abgedampft und das Produkt **45** roh zur Esterbildung eingesetzt (Ausbeute: 2,5 g ≙ 100 % d.Th.). 0,65 g 2-(2-Hydroxyäthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin (**45**) werden zu 7 ccm trockenem Pyridin gegeben, die Mischung wird auf -10 °C in einer Eis-Kochsalz-Mischung gekühlt, und 1,4 g 3,4,5-Trimethoxybenzoylchlorid über einen Zeitraum von drei Stunden in kleinen Mengen zugegeben. Dabei geht **45** in Lösung und es bildet sich

wenig weißer Niederschlag. Die Mischung wird 12 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt, um sich dann langsam auf Raumtemperatur zu erwärmen. Nach insgesamt vier Tagen Reaktionszeit wird das Gemisch in 350 ccm Eiswasser gegossen, dem 3 ccm 10 n Ammoniaklösung zugegeben sind. Über Nacht bildet sich ein gut abfiltrierbarer Niederschlag. Dieser wird in Chloroform gelöst, zweimal mit 1 %iger Salzsäure, einmal mit Natriumbicarbonat (10 %)-Lösung, einmal mit Wasser gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Der Rückstand wird aus absolutem Äthanol umkristallisiert.

AUSBEUTE: 700 mg ≙ 52 % der Theorie,
Weiße nadelförmige Kristalle, Fp.: 151°C, Lit.: 151 °C [88]

$C_{23}H_{26}N_2O_5$ (410,48) Ber.: N 6,82 Gef.: N 6,79

MASSENSPEKTRUM: M^+ 410 (17) 143 (100) 171 (55) 156 (31) 185 (25) 144 (15) 197 (13) 42 (13) 212 (10) 195 (10) m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,2 (1) austb. N-H, m 7,1 - 7,6 (6) arom.H,
$CDCl_3$/ D_2O br. s 3,8 (2) H an C_1, t 4,6 (2) J = 6 Hz -CH_2-OOC-, t 3,02 (2) J = 6 Hz N-CH_2-, m 2,8 - 3,1 (4) H an $C_{3,4}$.

IR (cm^{-1}) KBr: 3380, 2930, 2950, 2830, 1710, 1585, 1500, 1460, 1410, 1335, 1220, 1170, 1120, 990, 855, 765, 755, 740.

2-[2-(3,4,5-Trimethoxybenzoyl)-äthyl]-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carbolin-hydrochlorid (**50**)

6,9 g (0,04 Mol) **30**, 6,1 g (0,02 Mol) ß-Dimethylamino-3,4,5-trimethoxypropiophenonhydrochlorid (**51**) [91] und 50 mg p-Toluolsulfonsäure werden gemischt und in 50 ccm absolutem Xylol unter Rühren vier Stunden am Rückfluß erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird heiß filtriert und der Rückstand mit wenig Xylol nachgewaschen. Er be-

steht aus 4,3 g **30** HCl. Das Filtrat wird im Vakuum zur Trockne eingedampft, der braune Rückstand in ca. 50 ccm Äthanol aufgenommen und mit äthanolischer Salzsäure bis zur sauren Reaktion versetzt. Über Nacht bilden sich Kristalle, die, einmal aus Äthanol und zweimal aus Methanol umkristallisiert, das gewünschte Produkt **50** rein ergeben.

AUSBEUTE: 3,9 g ≙ 46 % der Theorie, weiße Kristalle, Fp.: 215 °C

$C_{23}H_{26}N_2O_4$ HCl (394,46 +HCl, 430,92)

Ber.: C 64,11 H 6,32 N 6,50

Gef.: C 64,00 H 6,26 N 6,62

MASSENSPEKTRUM: M^+ 394 ($17 \cdot 10^{-4}$) 143 (100) 222 (40) 172 (28) 195 (20) 151 (16) 207 (12) 179 (11) 115 (16) 55 (20) m/e (%).

^{1}H-NMR δ (ppm): s 8,2 (1) austb. N-H, m 6,9 - 7,5 (6) arom. H, s 3,85 und s 3,9 (9) $-OCH_3$, br.s 3,6 (2) H an C_1, A_2B_2-System 2,9 - 3,3 (4) $N-CH_2-CH_2-CO$; $^{\nu}CH_2-CO$ = 3,3; $^{\nu}N-CH_2-$ = 3,03; J = 5,5 Hz, br. s 2,8 (4) H an $C_{3,4}$.

(Base)
$CDCl_3$ / D_2O

IR (cm^{-1}) KBr: 3300, 3000, 2915, 2930, 2660, 2550, 1665, 1580, 1500, 1450, 1405, 1360, 1330, 1230, 1160, 1120, 990, 740, 640.

3. PHARMAKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Die pharmakologischen Untersuchungen wurden im Department für Neuropsychopharmakologie der Schering AG, Berlin durchgeführt. Herrn Dr. R. Horowski danke ich für seine Unterstützung und Anleitung, Frau M. Schlangen und Herrn J. Seidler für ihre Mitarbeit.

3.1. Ergebnisse des Maus-Screens auf Wirkung am Nervensystem*)

Die Substanzen **31**, **32**, **34**, **35**, **36**, **37**, **38**, **39**, **40**, **41**, **42**, **45**, **46** und **50** durchliefen einen nach Irwin[94] und Campbell[95] modifizierten Maus-Screen. Sie wurden in 10 %igem Cremofor EL suspendiert und i.p. appliziert. Die höchste Dosierung lag bei 1600 mg/kg, diese wurde jeweils halbiert, bis keine Wirkung an den Mäusen mehr festzustellen war.

Die Tiere wurden nach Applikation der Substanzen nach einem festgelegten Schema beobachtet, das die Möglichkeit gibt, akute Wirkungen am Nervensystem der Maus zu erkennen.

Die Ergebisse sind in Tabelle 8 zusammengestellt, und zwar sind die Parameter angeführt, in denen sich die Substanzen als wirksam erwiesen. Es wird jeweils die Wirkungsbreite einer Substanz angegeben, d.h. wie oft die höchste wirksame aber nicht letale Dosis halbiert werden kann, ohne daß Wirkungsverlust eintritt. Drei Tiere wurden pro Dosis eingesetzt. Wurde nur an einem Tier das jeweils angegebene Symptom beobachtet, wurde dies als Teilwirkung (0,5) gewertet, zeigten zwei oder drei Tiere die Symptome, so wurde dies als volle Wirksamkeit angesehen. Als Beispiel sei die Angabe der Wirkungsbreite des Symptoms " verminderte Motorik " beim Reserpin erläutert: >12,5 (0,1 - 0,2 > 800), die Wirkungsbreite ist größer als 12,5, in Klammern angegeben sind erstens die geringste Dosierung in mg/kg, bei der eine Teilwirkung beobachtet wurde, zweitens die geringste Dosierung, die volle Wirksamkeit hervorruft (unterstrichen) und drittens die geringste letale Dosis. Zum Vergleich sind die Wirkungsbilder des Reserpins und des Chlorpromazins mit angeführt.

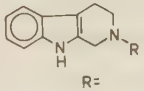
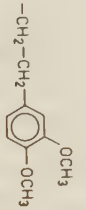
---

*) Herrn Dr. Wachtel bei der Schering AG danke ich für die Überlassung der Screenbefunde.

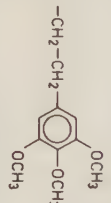
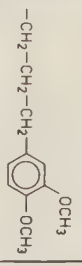
94) Irwin, S., Psychopharmacologia (Berl.) 13 222-257 (1968)

95) Campbell, D.E.S., und Richter, W., Acta pharmacol. et toxicol. 25 345-363 (1967)

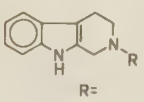
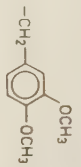
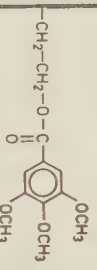
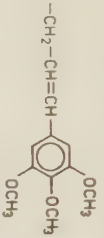
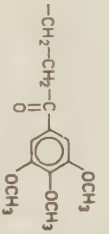
Tabelle 8

 R=				
Substanz Nr.	RESERPIN	CHLORPROMAZIN	**38**	
Ptosis	12	7	9,5 (1,56-3,13-800)	
starke Ptosis	9	-	7	
verminderte Motorik	>12,5 (0,1-0,2>800)	7	8,5	
Hypothermie	9,5	4,5	7,5	
Katalepsie	5	nur 3,13-12,5/25	nur 12,5/25/50/200	
Tonus vermindert	8,5	6	8,5	
Gang hypoton	10	6	8,5	
Anti-Morphin				
Tonus	6,5	7,5	8,5	
Straub	-	8	7,5	
Mydriasis	8,5	-	8,5	
Anti-Writhing	-	8 (0,78 - 200)	8,5	
Anti-MES	clonisch 1,5	tonisch 2,5	clonisch 1,5 tonisch 2,5	
Anti-Oxotremorin	-	Tremor 4,5 Hypothermie 6,5	-	
Wirkungs-maximum	4 hr - 24 hr	30 min - 4 hr	30 min - 4 hr	
Besonderheiten	Tremor 13 Miosis 9	Exophthalmus 7	Anti-Apomorphin 5,5	

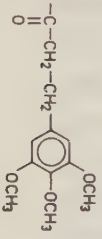
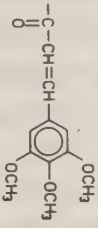
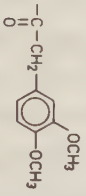
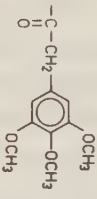
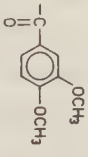
Forts. Tab.: 8

			
45	**40**	**41**	**39**
8,5 (1,56-3,13-800)	> 7 (12,5 > 800)	6	4
3	3,5	2,5	2
6,5	7	6	4,5
2	4	4,5	2,5
nur 12,5/25/200/400	2,5	1	1,5
6	4,5	5,5	4
6,5	7,5	6,5 (12,5 - 25 - 400)	5 (6,5 - 200)
6 5,5 -	4,5 4,5 2,5	2,5 3,5 0,5	3 3 2
4	-	-	2,5
-	clonisch 1	clonisch 4,5	tonisch 1
Hypothermie 1	-	-	-
30 min - 4 hr	30 min - 4 hr	30 min - 4 hr	30 min - 4 hr
Anti- Apomorphin 1		Haut gerötet 5,5	

Forts. Tab.: 8

 R=					
Substanz Nr.	**37**	**46**	**42**	**50**	
Ptosis	3	3	4,5	2	
starke Ptosis	3	-	2,5	-	
verminderte Motorik	3	3	4,5	2	
Hypothermie	3	2,5	4	2	
Katalepsie	nur 100 / 200	1,5	1	2,5	
Tonus vermindert	3	3	2,5	-	
Gang hypoton	3,5 (50-100-400)	> 5,5 (25-50 > 800)	> 5,5 (25-50 > 800)	3 (25 - 200)	
Anti-Morphin					
Tonus	2,5	0,5	-	2	
Straub	-	0,5	-	nur 25	
Mydriasis	2,5	0,5	-	-	
Anti-Writhing	-	-	-	-	
Anti-MES	-	clonisch 3,5	-	clonisch nur 25	
Anti-Oxotremorin	-	-	-	-	
Wirkungs-maximum	aller Substanzen: 30 min - 4 hr				

Forts. Tab.: 8

				
35	**36**	**32**	**34**	**31**
2,5	-	0,5	-	0,5
-	-	-	-	-
3	> 4 (200 > 1600)	2,5	-	> 1,5 (800-1600>1600)
1,5	2,5	1,5	-	-
-	0,5	-	0,5	-
1,5	4	3,5	0,5	-
> 3 (200 > 800)	4	> 3,5 (100-200>800)	4,5 (25-100-800)	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
ton.nur 100 clon.nur 100	-	clonisch 1,5	clonisch 1,5	-
-	-	-	-	-

aller Substanzen : 30 min - 4 hr

Fast alle Substanzen rufen in unterschiedlichen Dosierungen an der Maus Ptosis, verminderte motorische Aktivität, hypotone Gangstörungen, Tonusverminderung und Hypothermie hervor. Sie sind zum Teil im Anti-Writhing Test nach Siegmund [96] auf analgetische Wirkungen und im Antimorphintest, in dem die Beeinflussung der durch Morphin induzierten Symptome Tonusverstärkung, "Straub" - Reaktion und Mydriasis untersucht wird, wirksam. Geringere Wirksamkeiten zeigten sich im Anti-M.E.S. Test (maximal elektroshock seizure) nach Swinyard [97] auf antikonvulsive Wirkung und im Anti-Oxotremorin Test, modifiziert nach Everett [98] auf anticholinerge Wirkung.

Dieses Wirkungsbild findet man ähnlich bei den neuroleptisch wirksamen Substanzen Reserpin und Chlorpromazin.

Die wirksamste der getesteten Substanzen ist das Dimethoxyphenyläthyl-Derivat des Tetrahydro-ß-carbolins **38**, das analog der Struktur des Dopamins als dessen potentieller Antagonist synthetisiert worden war. Das als potentieller Agonist synthetisierte Diacetoxy-Derivat **45** zeigt überraschenderweise fast das gleiche Wirkungsbild. Lediglich im Anti-Morphin Test wird das Symptom Mydriasis nicht aufgehoben. In der Wirksamkeit folgen das Timethoxyphenyläthyl-Derivat **40** und das Trimethoxyphenylpropyl-Derivat - beide enthalten das Trimethoxyphenyl-Strukturelement des Reserpins -. Diese sind im Unterschied zu den Dimethoxy-Derivaten im Anti-Writhing Test unwirksam (ebenso wie Reserpin) und **41** verursacht zusätzlich Hautrötung.

In Ergänzung zu den beiden Di- und Trimethoxyphenyläthyl-Derivaten und dem Trimethoxyphenylpropyl-Derivat wurde das Dimethoxyphenyl-

96) Siegmund, E., Cadmus, R. und Go Lu,
Proc. Soc. Exper. Biol. 95 729 - 731 (1957)

97) Swinyard, E.A., Brown, W.C. und Goodman, L.S.,
J. Pharmacol. Exp. Ther. 106 319 - 330 (1952)

98) Everett, G.M., Blockus, L.E. und Shepperd, I.M.,
Science, 124 79 (1956)

propyl-Derivat **39** synthetisiert. Dies ist stärker toxisch als alle bisher aufgeführten Substanzen und ähnelt im Wirkungsbild eher **38** als **41**, ist jedoch schwächer wirksam.

Wird der Abstand zwischen Carbolin-Teil und Dimethoxyphenyl-Teil auf eine Methylengruppe verkürzt (**37**), vermindert sich die Wirksamkeit.

Die Einführung von funktionellen Gruppen in die Carbolin- und Phenylteil verknüpfende Kohlenstoffkette führt durchweg zu Wirkungsverlusten: Esterfunktion (**46**) und Doppelbindung (**42**) wirken sich am wenigsten aus. Die Ketofunktion in α-Stellung zum Trimethoxyphenylring erhöht die Toxizität und ergibt so geringere Wirkungsbreiten. Die geringste Wirksamkeit von allen getesteten Verbindungen haben die Säureamide. Auch in dieser Reihe nimmt, gemessen an der überwiegenden Zahl der Symptome, mit Verringerung des Abstandes zwischen Carbolin- und Phenyl-Teil die Wirkungsbreite ab.

Es sind somit in der Reihe der untersuchten Substanzen Dimethoxy-Derivate im allgemeinen wirksamer als die entsprechenden Trimethoxy-Verbindungen. Die optimale Verknüpfung zwischen Carbolin- und Phenyl-Teil ist eine reine Kohlenwasserstoffkette mit der Länge von zwei C - Atomen.

3.2. Weitere pharmakologische und biochemische Charakterisierung der Verbindungen **38** und **41**.

3.2.1. BEGRÜNDUNG DER AUSWAHL UND ZIEL DER UNTERSUCHUNGEN

Für weitere pharmakologische und biochemische Untersuchungen wurde die im Maus-Screen wirksamste Verbindung **38** ausgewählt. Zusätzlich wurde das Trimethoxyphenylpropyl-Derivat **41** in die Untersuchungen mit einbezogen, da sich hier im Screen anhand des Symptoms Hautrötung und fehlender kataleptogener und Anti-Writhing Wirkung eine eventuell unterschiedliche Wirkungsqualität abzeichnete.

Ziel der Untersuchungen war, für die im Screen beobachteten Substanzeffekte, Ptosis, Katalepsie, verminderte motorische Aktivität und Hypothermie Dosis- und Wirkungsbeziehungen zu erhalten. Diese Symptome sind für Neuroleptica charakteristisch: Alle neuroleptisch wirkenden und eine Vielzahl anderer Pharmaka verursachen bei Versuchstieren Ptosis[99] (Herabfallen des Augenlides). Dies kann durch zentrale und/oder periphere Mechanismen bedingt sein (siehe auch Kap. 3.3.). Das Symptom Katalepsie, 'das besonders bei kleinen Nagetieren mit Phenothiazinderivaten hervorgerufen werden kann, besteht in einer hochgradigen motorischen Antriebslosigkeit bei gleichzeitig erhöhtem Muskeltonus. Man kann den Tieren alle möglichen unnatürlichen Stellungen des Körpers und der Extremitäten passiv geben, ohne daß diese spontan korrigiert werden'[100]. Sie scheint ein Maß für die extrapyramidalen Nebenwirkungen der Neuroleptica

99) Van Rossum, J.M., Janssen, P.A.J., Boissier, J.R., Julou, L., Loew, D.M., Møller Nielsen, I., Munkvad, I., Randrup, A. Stille, G. und Tedeschi, D.H. in 'The Neuroleptics' Mod. Probl. Pharmacopsychiat. 5 23 - 70 Hg.: Bobon, DP., Janssen, P.A.J. und Bobon, J. S. Karger, Basel (1970)

100) v. Brücke, F. und Hornykiewicz, O. Pharmakologie der Phsychopharmaka, 25, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, (1966)

zu sein und ist auf eine Beeinflussung des dopaminergen Systems zurückzuführen [99]. Ebenfalls fast alle Neuroleptica behindern das natürliche explorative Interesse der Versuchstiere, d.h. sie vermindern die motorische Aktivität. Schließlich ist die Hypothermie eine Erscheinung der meisten Neuroleptica. Sie kommt vorwiegend durch eine Hemmung der zentralen Temperaturregulationszentren zustande. Daneben können periphere Mechanismen eine Rolle spielen [101].

Durch Interaktionstests mit bekannten Pharmaka sollen weitere Hinweise auf den Wirkungsmechanismus (die -mechanismen) der Prüfsubstanzen gewonnen werden. So kann z.B. ein Apomorphinantagonismus Hinweis auf dopaminantagonistische Wirkung sein, Clonidin-Noradrenalin- und Amphetaminantagonismus geben Hinweise auf α-adrenolytische Aktivitäten,und schließlich kann ein reserpinartiger Wirkungsmechanismus durch Vorbehandlung mit dem MAO-Hemmer Nialamid erkannt werden(weitere Einzelheiten und Literatur s. Kap.3.3).

Darüberhinaus sollen in diesen Tests relative Wirksamkeiten im Vergleich mit Standardsubstanzen erhalten werden.

3.2.2. MATERIAL UND METHODEN

Versuchstiere

Wenn nicht anders angegeben, wurden NMRI - Mäuse (♂♀) im Gewicht von 18 - 25 g verwendet. Die Tiere hatten Futter (ALTROMIN^{R}) und Wasser ad libitum. Bei den Versuchen befanden sich die Tiere, um eine wechselseitige Beeinflussung auszuschalten, in Einzelkäfigen (9 x 9 x 10) aus Acrylglas.

Substanzen und Lösungen

38 und **41** wurden in einer 10 %igen Lösung von Cremofor EL (BASF) in 0,9 % NaCl - Lösung suspendiert. In gleicher Weise

---

101) siehe 100) S.9

wurden Haloperidol (Janssen/Düsseldorf), Nialamid (Pfizer/New York), Noradrenalin (Serva/Heidelberg) und Clonidin-HCl (Boehringer/Ingelheim) angesetzt. Apomorphin-HCl (Sandoz/Basel) wurde in 0,9 % -NaCl-Lösung gelöst, ebenso PPC (2-Phenyl-1,4-benzochinon, Ferak/Berlin) und Reserpin-HCl (Boeringer/Mannheim) in 0,085 % Myrj^{R}53 (Polyoxyäthylenstearat, Atlaschemie/Essen) in 0,9 % NaCl-Lösung suspendiert. Alle Lösungen und Suspensionen wurden unmittelbar vor dem Versuch angesetzt.

Applikation

Die Prüfsubstanzen wurden i.p. bzw. mit einer Schlundsonde p.o. appliziert. Das Injektionsvolumen betrug in allen Fällen 0,2 ml / 20g Körpergewicht. Die Kontrolltiere erhielten in gleicher Weise das entsprechende Trägervolumen.

Testmethoden

Ptosis

Die Ptosis der Versuchstiere wurde mit einem Score-System nach Rubin u.a. [102] bestimmt. Als Ptosis wurde gewertet, wenn die Augen der Tiere zur Hälfte (Score 2), bis auf einen Spalt (Score 3) oder völlig geschlossen waren (Score 4), waren sie weniger als die Hälfte (Score 1) geschlossen oder völlig geöffnet (Score 0), wurde dies als negativ gewertet. Jeweils 15 sec vor der Beurteilung wurden die Tiere durch Fallenlassen aus 10 cm Höhe stimuliert.

Katalepsie

Die Katalepsie wurde modifiziert nach Zetler und Moog [103] getestet. Hierzu wurden die Tiere 30 min nach i.p. Applikation der Prüfsubstanzen an einen vertikalen Stab (ø = 1,0 cm), der mit einer

102) Rubin,B.,Malone,M.H.,Waugh,M.H. und Burke,J.C., J.Pharmacol.exp.Ther. 120 125 - 136 (1957)

103) Zetler,G. und Moog,E., Arch.exp.Path.Pharmacol. 232 442 - 458 (1958)

Schnur umwickelt war, gesetzt und 15 sec lang beobachtet. Als Katalepsie wurde bewertet, wenn sich die Tiere in diesem Zeitraum weder umdrehten noch sich mindestens 1 cm nach oben oder unten fortbewegten.

Motorik

Die Beeinflussung der Motorik wurde mit einer Modifikation des von Vernier u.a. [104] beschriebenen Verfahrens untersucht. Dabei wurden die Versuchstiere einzeln in die Mitte einer Platte gesetzt und geprüft, ob sie innerhalb von 1 min den Rand der Platte erreichten (zurückgelegte Mindestentfernung: 20 cm). War dies nicht der Fall, wurde die motorische Aktivität als vermindert gewertet.

Körpertemperatur

Die Körpertemperatur wurde mit einem Universalthermometer / ELLAB TE 3, dessen Thermosonde (RM 6) 5 mm weit in das Rektum eingeführt und dort 20 sec belassen wurde, gemessen.

Apomorphinantagonismus

In Anlehnung an den von Janssen [105] für Ratten beschriebenen Anti-Apomorphin Test wurde die apomorphinantagonistische Wirkung an Mäusen getestet. Diese erhielten 1,56 mg/kg Apomorphin-HCl s.c. und gleichzeitig die Prüfsubstanz i.p.. 30 min nach diesen Injektionen wurden die Tiere 1 min lang beobachtet, ob sie die durch Apomorphin hervorgerufenen Stereotypien (ununterbrochene Bewegungen im bucco-oralen Bereich) zeigten.

Clonidinantagonismus

1. 20 min nach i.p. Gabe der Prüfsubstanzen wurde den Tieren 6,25 mg/kg Clonidin-HCl subcutan injiziert und nach weiteren 10 min

104) Vernier,V.G.,Hanson,H.M.,Stone,C.A., In 'Psychosomatic Medicine' 683 - 690, Hg.: Nodine,H.H.,Moyer,J.H. , Lea + Febiger, Philadelphia (1962)

105) Janssen,P.A.J.,Niemegeers,C.J.C. und Jagenau,N.A.H., Arzneimittelforschung 10 1003 - 1005 (1960)

wurde geprüft, inwieweit die durch Clonidin-HCl induzierten Symptome 'Exophthalmus' (hervorstehende Augen), 'Mydriasis' (Pupillenerweiterung, ø größer als 2 mm) und vermehrter 'Speichelfluß' aufgehoben waren. Der Pupillendurchmesser wurde vor einer Streulichtquelle mit Hilfe eines graduierten Okulars eines Binocular-Auflichtmikroskops (Leitz FP 1) bestimmt. Als vermehrter 'Speichelfluß' wurde gewertet, wenn unter der Zunge der Tiere nach Öffnen des Mauls durch seitliches Wegschieben des Unterkiefers klebriges Speichelsekret zu erkennen war.

2. Weiter bewirkt Clonidin-HCl bei Mäusen ein kompulsives Beißverhalten. Ob dieses Symptom durch die Prüfsubstanz aufgehoben wird, wurde modifiziert nach Morpurgo [106] untersucht: Je zwei Tiere erhielten 30 min nach i.p. Gabe der Prüfsubstanz 6,25 mg/kg Clonidin-HCl i.v. und wurden unmittelbar danach zu zweit in ein Becherglas (Inhalt 600 ml, ø 10 cm, Höhe 12 cm) gesetzt und 5 min lang beobachtet, ob sie einander bissen, wie dies bei über 90 % der Kontrollen der Fall war.

Anti-Writhing Test

Dieser auch im Screen angewandte Test auf analgetische Wirkungen wurde modifiziert nach Siegmund [96] in folgender Weise durchgeführt. 30 min nach s.c. Applikation der Prüfsubstanzen und 7 min nach Injektion von PPC (2-Phenyl-1,4-benzochinon) wurde an den Versuchstieren durch Beobachtung ermittelt, wieviel 'writhes' (d.h. charakteristische wellenförmige über die Bauchwand laufende langsame Kontraktionen mit Ventralkrümmungen der Wirbelsäule) innerhalb einer Minute auftraten. Als Wirkung der Prüfsubstanzen wurde eine völlige Aufhebung der 'writhes' in diesem Zeitraum gewertet.

Interaktionstest mit Noradrenalin

Dieser von Janssen [107] an Ratten durchgeführte Test wurde analog

106) Morpurgo,C., Europ.J.Pharmacol, 3 374 - 377 (1968)

107) Janssen,P.A.J.,Niemegeers,N.A.H. und Schellekens,K.H.L., Arzneimittelforschung 15 104 - 115 (1965)

an Mäusen durchgeführt. 30 min nach i.p. Gabe der Prüfsubstanzen wurde den Tieren eine letale Dosis (1,1 mg/kg) Noradrenalin i.v. injiziert. Als positive Wirkung wurde gewertet, wenn innerhalb der nächsten Stunde bzw. der nächsten 24 Stunden die Tiere nicht starben, was bei den Kontrollen bei über 95 % innerhalb weniger Minuten der Fall war.

Beeinflussung von Ptosis und Hypothermie durch Nialamid

Da die Erzeugung von 'Ptosis' eine der Hauptwirkungen der Prüfsubstanzen war, wurde geprüft, ob sie in Analogie zur Reserpin-verursachten Ptosis durch MAO-Hemmer aufgehoben werden kann. Dabei erhielten die Tiere 90 min vor der Testung 25 mg/kg Nialamid i.p. und 30 min vor der Testung 50 mg/kg Prüfsubstanz i.p..

Interaktion mit D-Amphetaminsulfat in den Parametern Ptosis und Hypothermie

Gleichzeitig mit der i.p. Gabe der Prüfsubstanzen bzw. der Vergleichssubstanz Chlorpromazin-HCl (jeweils 50 mg/kg) wurde die Dosis von 3,13 mg/kg D-Amphetaminsulfat s.c. injiziert. Körpertemperatur und Ptosis der Tiere wurden 30 min p.i. bewertet. In einem weiteren Experiment erhielten die Tiere gleichzeitig mit den Prüfsubstanzen (50 mg/kg i.p.) oder Reserpin-HCl als Vergleichsubstanz (12,5 mg/kg i.p.) jeweils 3,13 mg/kg D-Amphetaminsulfat s.c. bzw. 0,9 % NaCl s.c. injiziert.

Inhibition der durch Reserpin induzierten Symptome Ptosis und Hypothermie

Dies ist eine Erweiterung des von Morpurgo innerhalb eines Screens auf ZNS- aktive Pharmaka beschriebenen Tests, bei dem nur die Reserpin - induzierte Ptosis beobachtet wurde. Aktiv waren Sympatomimetika wie Naphazolin und Phenmetrazin und Antidepressiva wie Pargylin.[108] . Der Test wurde auf folgende Weise durchge-

108) Morpurgo,C., Arzneimittelforschung 21 1727- 1734 (1971)

führt: 90 min und 5 Stunden nach simultaner Gabe der Prüfsubstanz i.p. (0,78, 3,13, 12,5, 50,0 mg/kg) und Reserpin-HCl i.v. (4,0 mg/kg) wurde geprüft, ob die durch Reserpin hervorgerufene Hypothermie und Ptosis durch die Prüfsubstanzen beeinflußt wird. Den Kontrolltieren wurde nur Reserpin-HCl und Lösungsmittel injiziert.

Biochemische Untersuchungen*)

Beeinflussung der Noradrenalin (NA)- Dopamin(DA)- Serotonin (5-HT) und 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA)- Spiegel im Gehirn von Ratten

Ratten (Wistar, 200 g) erhielten jeweils 100 mg/kg Prüfsubstanz i.p.. Nach zwei Stunden wurden die Tiere getötet und aus dem Gesamthirnhomogenisat durch Fluorescenzmessung [109), 110), 111), 112)] die Konzentration von NA , DA, 5-HT, und 5-HIAA bestimmt.

Beeinflussung der Akkumulation von L-DOPA, L-5-HTP, und 5-HIAA im Gehirn von Ratten nach Gabe des Decarboxylase-Hemmers NSD 1015

90 min nach i.p. Gabe der Prüfsubstanzen (100 mg/kg) wurde den Tieren 100 mg/kg NSD 1015 (3-Hydroxybenzylhydrazin), ein Hemmer der Decarboxylase für aromatische Aminosäuren appliziert. Nach weiteren 30 min wurden die Tiere getötet und im Hirn-Homogenisat die Konzentration an L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA), L-5-Hydroxytryptophan (L-5-HTP) und 5-Hydroxyindol-3-essigsäure (5-HIAA) nach W.Kehr [113)] und A. Carlsson [114)] bestimmt.

---

*) Herrn Dr. W. Kehr, Schering AG, Berlin, danke ich für die Überlassung dieser Versuchsergebnisse.

109) Atack C.V. und Magnusson T., J.Pharm.Pharmac, 22,627(1976)

110) Bertler A., Carlsson A. und Rosengren E., Act.physiol.scand. 44, 273 -292 (1958)

111) Atack C.V., Br.J.Pharmac. 48 , 699 - 714 (1973)

112) Atack C. und Lindqvist M.,Arch.Pharmacol. 279,267-284(1973)

113) Kehr W.,Carlsson A. und Lindqvist M., Arch.Pharmacol. 274 , 274 - 280 (1972)

114) Carlsson A., Davis J.N., Kehr W. Lindqvist M. u. Atack C.V. Arch.Pharmacol. 275 , 153 - 168 (1972)

Statistik

Statistische Unterschiede zwischen den jeweiligen Tiergruppen sind nach dem Mann - Whitney U Test berechnet.
Die mittlere effektive Dosis (ED_{50}) mit 95 % Vertrauensbereich wurde mit der Probit Analyse [115] berechnet.
Sonstige Dosis- Wirkungsbeziehungen wurden mit Hilfe der Regressionsanalyse erfaßt.

3.2.3. ERGEBNIS

Ptosis

Die ermittelten ED_{50}- Werte für die Auslösung der Ptosis sind in den Tabellen 9 und 9a zusammengestellt.

Aus der Bestimmung des Zeitverlaufs der Ptosis - Wirkung ergibt sich ein Wirkungsmaximum der Substanzen von 30 - 60 min , wobei dasjenige von **38** bei 30 min zu liegen scheint und das von **41** eher bei 60 min. Nach 6 Stunden läßt sich keine gesicherte Wirkung mehr ermitteln.

38 ist in allen Fällen 3 - 5 mal wirksamer als **41** .

Verglichen mit Chlorpromazin sind jedoch beide Substanzen wesentlich schwächer.

Durch p.o. Gabe sinkt ihre Wirksamkeit gegenüber der i.p. Gabe auf etwa die Hälfte.

---

115) Finney,D.J., Probit Analysis, London Cambridge Univercity Press (1952)

Tab.: 9 Zeitverlauf der Wirkung von **38** und **41** in der Auslösung des Symptoms "Ptosis" 30 min nach i.p. Applikation an der Maus.

Zeitpunkt der Messung p.i.	**38** ED_{50} (mg/kg)		**41** ED_{50} (mg/kg)	Relative Wirksamkeit (**38** =1)	p
30 min	3,79 (2,36-5,47)		18,0 (11,2-26,5)	o,21 (0,12-0,35)	≦ 0,05
60 min	4,95 (3,00-7,53)		13,9 (9,34-21,0)	0,36 (0,20-0,35)	≦ 0,05
120 min	7,78 (4,14-13,1)		34,0 (23,8-45,3)	Dosis-Wirkungs-kurve nicht parallel	-
240 min	28,2 (12,8-89,1)		>100	-	-
360 min	> 100		>100	-	-

Tab.: 9a Wirksamkeit von **38** und **41** in der Auslösung des Symptoms "Ptosis" 30 und 60 min nach i.p. und p.o. Applikation an der Maus (Chlorpromazin-HCl als Bezugssubstanz).

Zeitpunkt der Messung p.i.	**38** ED_{50} (mg/kg)	Relative Wirksamkeit geg.CPZ-HCl	p	**41** ED_{50} (mg/kg).	Relative Wirksamkeit geg.CPZ-HCl	p
i.p. Applikation						
30 min	1,59 (0,51-2,72)	0,17 (0,065-0,41)	≦ 0,05	17,9 (7,49-35,16)	0,015 (0,005-0,030)	≦ 0,05
60 min	4,97 (1,33-8,55)	0,07 (0,031-0,18)	≦ 0,05	15,9 (7,08-27,0)	0,023 (0,010-0,052)	≦ 0,05
p.o. Applikation						
30 min	11,1 (7,85-15,0)	0,25 (0,151-0,40)	≦ 0,05	43,7 (25,1-70,9)	0,063 (0,036-0,111)	≦ 0,05

In Klammern ist jeweils ein Vertrauensbereich von 95 % angegeben.

Katalepsie und Motorik

Bis zu einer Dosierung von 50 mg/kg bei **38** und 400 mg/kg bei **41** konnte 30 min nach i.p. Gabe weder eine dosisabhängige Verminderung der motorischen Aktivität noch eine Auslösung von Katalepsie gesichert werden.

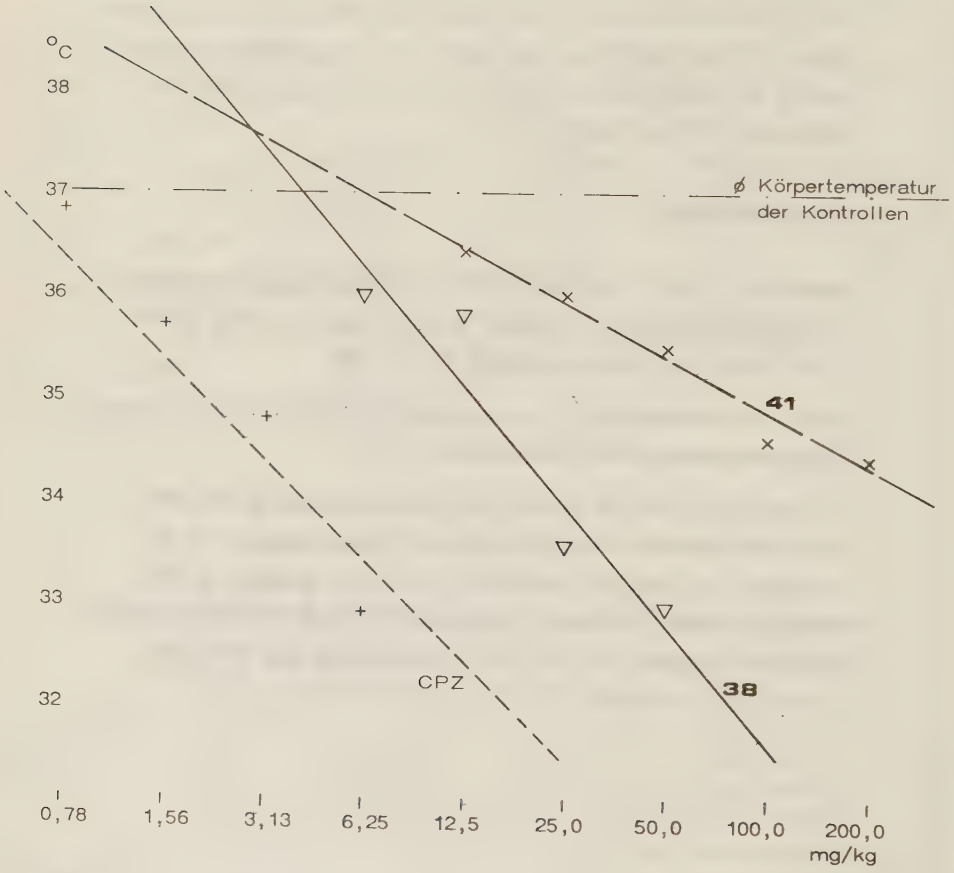
Körpertemperatur

Abbildung 7 zeigt, daß **38** und **41** in dosisabhängiger Regression die Körpertemperatur bei Mäusen 30 min nach i.p. Gabe senken, wobei **38** etwa 6 mal so wirksam ist wie **41** .

Aus dem Dosisbereich für Chlorpromazin ergibt sich auch für diesen Parameter seine größere Wirksamkeit.

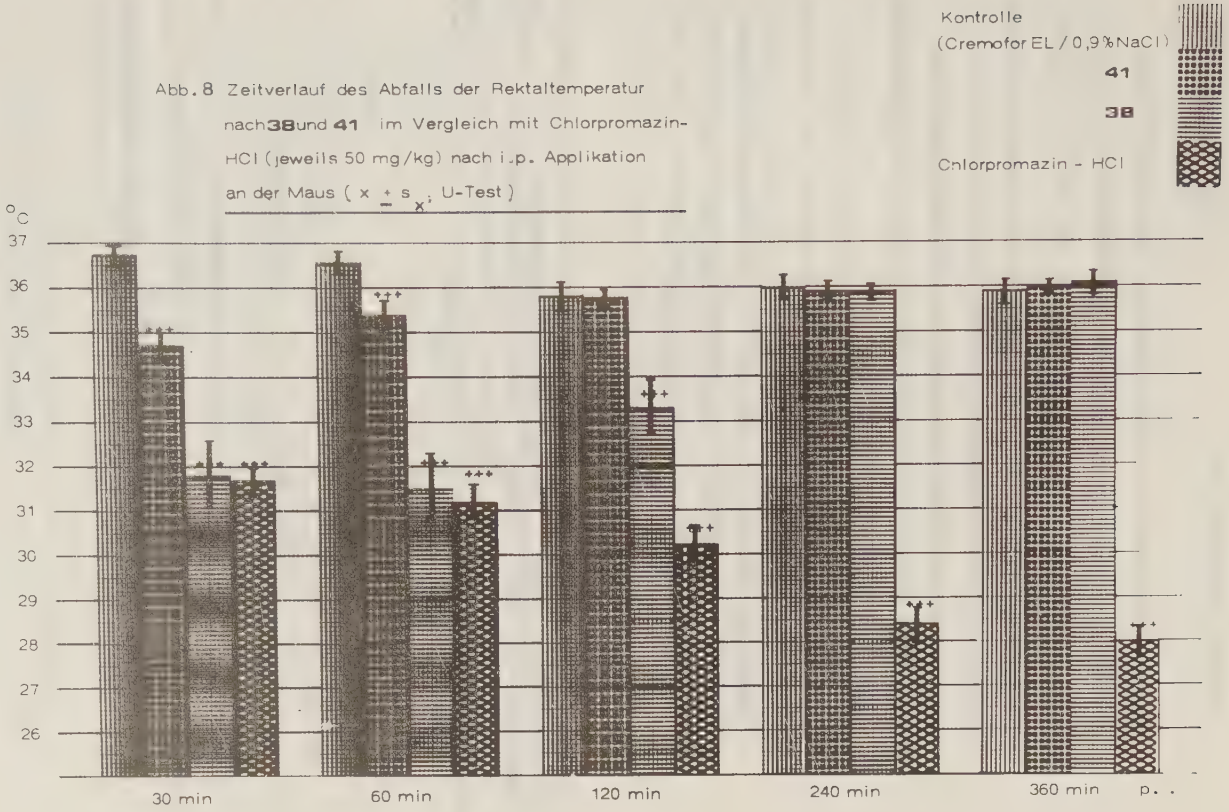
In Abbildung 8 ist die Wirkung von jeweils 50 mg/kg **38**, **41** und Chlorpromazin auf die Senkung der Körpertemperatur in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt: nach zwei Stunden ist die Wirkung von **41** und nach 4 Stunden die von **38** nicht mehr nachzuweisen, während diejenige von Chlorpromazin über 6 Stunden andauert.

Abbildung 7 : Wirksamkeit von **38** und **41** in der Senkung der Körpertemperatur 30 min nach i.p. Applikation.



Substanz	Regressionskoeffizient mit Standardabweichung	p	Relative Wirksamkeit	p
38	- 3,79 ± 0,58	≦ 0,01	1	-
41	- 1,76 ± 0,47	≦ 0,01	0,16 (0,079-0,29)	≦ 0,01
Chlor-promazin	- 3,23 ± 0,37	≦ 0,01	-	-

Abb. 8 Zeitverlauf des Abfalls der Rektaltemperatur nach **38** und **41** im Vergleich mit Chlorpromazin-HCl (jeweils 50 mg/kg) nach i.p. Applikation an der Maus ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; U-Test)



Apomorphinantagonismus

Aus Tabelle 10 geht die Wirksamkeit von **38** und **41** in der Hemmung der durch Apomorphin induzierten Stereotypien hervor.

38 zeigt in drei Versuchen (AI, AII, AIII) 30 min p.i. eine ED_{50} um 50 mg/kg und ist damit gegenüber Haloperidol, einer der in diesem Test wirksamsten Substanzen, 200 mal schwächer. **41** ist dagegen bis zu Dosierungen von 400 mg/kg unwirksam. Nach zwei Stunden ist auch für **38** unterhalb von 200 mg/kg keine positive Wirkung mehr festzustellen.

Tabelle 10: Wirkung von **38** und **41** in der Hemmung der durch Apomorphin induzierten Stereotypien 30 und 120 min nach i.p. Applikation an der Maus

Zeitpunkt der Messung p.i.	Vers. Nr.	**38** ED_{50} (mg/kg)	Relative Wirksamkeit g. CPZ / g.Haloperidol	p	**41** ED_{50} (mg/kg)
30 min	AI	50,3 (25,6-163,6)	0,03 (0,016-0,092)	≦0,05	
30 min	AII	50,0 (30,8-81,0)	0,028 (0,017-0,052)	≦0,05	
30 min	AIII	49,3 (29,6-82,2)	0,00397 (0,0024-0,0066)	≦0,05	> 400
120 min	AIV	> 200	Haloperidol > 0,55 mg/kg		> 400

In Klammern ist jeweils ein Vertrauensbereich von 95 % angegeben.

Clonidinantagonismus

1. Die Ergebnisse der Prüfung von **38** und **41** auf Hemmung der durch Clonidin verursachten Symptome 'Exophthalmus', 'Mydriasis' und 'Speichelfluß' sind in der Tabelle 11 zusammengestellt.

Als Bezugssubstanz diente Levomepromazin, ein in diesem Test besonders wirksames Neuroleptikum. **38** zeigt in allen Parametern eine dem Levomepromazin ähnliche aber um das 10- bis 20-fache abgeschwächte Wirkung.

41 ist in den Parametern 'Mydriasis' und 'Speichelfluß' 100 mal schwächer als Levomepromazin, und in dem Parameter 'Exophthalmus' ist bis zur Dosierung von 50 mg/kg keine Wirkung gesichert.

Aus früheren Versuchen ist bekannt, daß Chlorpromazin 1/2 so wirksam wie Levomepromazin ist und Reserpin in diesem Test bis zur Dosierung von 50 mg/kg keine Wirkung zeigt.

2. Das durch Clonidin induzierte agressive Beißverhalten der Mäuse wurde durch **41** nicht beeinflußt. Für **38** wurde in diesem Test eine mittlere hemmende Wirkung ermittelt (ED_{50} = 18,8; Vertrauensbereich 95 % = 9,47 - 57,7 mg/kg i.p.)

Anti - Writhing Test

Es wurden für **38** folgende Werte ermittelt:
ED_{50} = 4,7 mg/kg (95 % Vertrauensbereich = 2,59 - 7,71) und relative Wirksamkeit gegen Chlorpromazin-HCl = 0,032 (95 % Vertrauensbereich = 0,010 - 0,096), d.h. Chlorpromazin-HCl ist etwa 30 mal wirksamer.

Für **41** ließ sich unterhalb der Dosierung von 400 mg/kg keine dosisabhängige Wirksamkeit nachweisen.

Tab.: 11 Wirksamkeit von **38** und **41** in der Hemmung der durch Clonidin-HCl induzierten Symptome "Exophthalmus", "Mydriasis" und "Speichelfluß" 30 min nach i.p. Applikation an der Maus.

Vers.-Nr.	**38** ED_{50} (mg/kg)	**41** ED_{50} (mg/kg)	Relative Wirksamkeit **38** = 1	p	Relative Wirksamkeit gegen Levomepromazin-HCl **38**	p	**41**	p
"Exophthalmus"								
CI	17,7 (11,1-28,1)	> 50	-	-	0,11 (0,063-0,28)	≤ 0,05	-	-
CII	28,4 (17,9-44,9)	> 50	-	-	0,068 (0,040-0,16)	≤ 0,05	-	-
"Mydriasis"								
CI	12,4 (2,44-24,1)	34,2 (19,9-194)	0,35 (0,11-0,54)	≤ 0,05	0,037 (0,017-0,11)	≤ 0,05	0,010 (0,0033-0,021)	≤ 0,05
CII	6,31 (1,62-13,6)	46,7 (15,7-322)	0,13 (0,033-0,32)	≤ 0,05	0,13 (0,070-0,43)	≤ 0,05	0,017 (0,0080-0,046)	≤ 0,05
"Speichelfluß"								
CI	≈ 6,25	≈ 25	-	-	-	-	-	-
CII	8,26 (3,29-16,2)	42,9 (13,1 - 107)	0,20 (0,064-0,49)	≤ 0,05	0,050 (0,024-0,11)	≤ 0,05	0,010 (0,0006-0,020)	≤ 0,05

In Klammern ist jeweils ein Vertrauensbereich von 95 % angegeben.

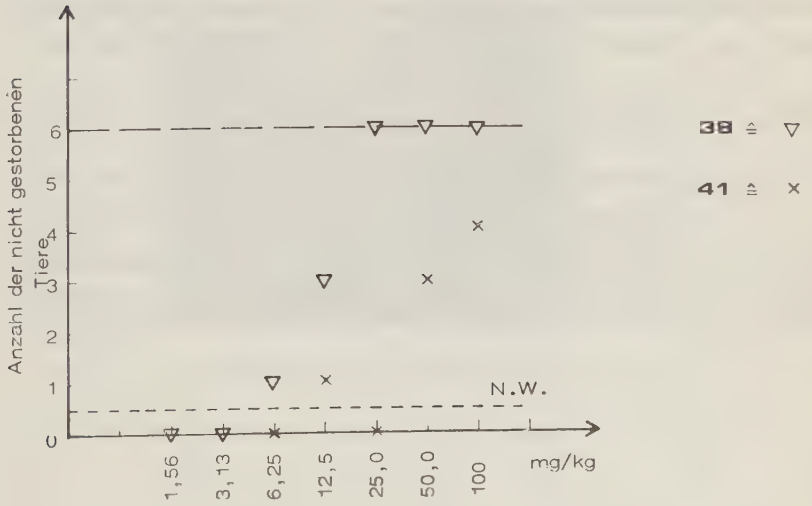
Interaktion mit Noradrenalin

Den Verlauf der Prüfung auf Prevention des durch Noradrenalin (i.v.) ausgelösten Todes gibt Abbildung 9 wieder.

Es wurden jeweils 6 Tiere pro Dosis eingesetzt, wobei die Anzahl der Lösungsmittelkontrollen 12 betrug, von denen ein Tier starb (d.h. die natürliche Wirkung lag bei 8,3 %). Die statistische Auswertung konnte wegen fehlender Konvergenz nicht erfolgen.

Die ED_{50} wird für **38** etwa zwischen 6 und 25 mg/kg liegen, für **41** unter 100 mg/kg.

Abb.: 9 Wirkung von **38** und **41** in der Verhinderung des durch Noradrenalin (1,1 mg/kg i.v.) verursachten Todes an der Maus.



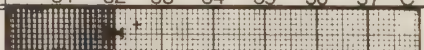
Beeinflussung der Ptosis und Hypothermie durch Nialamid

Es fand in den angegebenen Dosierungen (s.Abbildung 10) keine signifikante Beeinflussung der Hypothermie und nur geringfügige Verminderung der Ptosis statt.

Die gleiche Nialamiddosis antagonisiert in anderen Versuchen Reserpin in den Parametern Ptosis und Hypothermie vollständig.

Abb.: 10 Interaktion von **38** und **41** mit Nialamid in den Parametern "Rektaltemperatur" und "Ptosis" 30 min nach i.p. Applikation an der Maus.

Nialamid (25 mg/kg) i.p. 60 min vor Applikation der Prüfsubstanz

Subst.1	Dosis (mg/kg)	Subs.2	Rektaltemperatur ($x \pm s_x$), s_x = — 31 32 33 34 35 36 37 °C	Zahl der Tiere mit Ptosis
38	50	Nialamid		15 / 20
38	50	10 % Cremofor EL		20 / 20
41	50	Nialamid		13 / 20
41	50	10 % Cremofor EL		17 / 20
10 % CremoforEL		10 % Cremofor EL		0 / 20

+ Unterschied mit und ohne Nialamid: $p > 0,05$

Interaktion mit D-Amphetaminsulfat in den Parametern Ptosis und Hypothermie

Wurden **38**, **41** und Chlorpromazin-HCl gleichzeitig mit D-Amphetaminsulfat gegeben, so verhinderten diese den durch D-Amphetaminsulfat verursachten Anstieg der Körpertemperatur.

Die Wirksamkeit ist beim Chlorpromazin am größten. Es folgt **38** und schließlich **41** .

Obwohl D-Amphetaminsulfat bei den Kontrolltieren starken Exophthalmus hervorruft, wird die Ptosiswirkung von Chlorpromazin bei keinem Tier aufgehoben. Die Ptosiswirkung von **38** bleibt ebenfalls bei der Überzahl der Tiere erhalten, während diejenige von **41** bei der überwiegenden Zahl der Tiere aufgehoben wurde (s. Abbildung 11, 1.Abschnitt).

Der zweite Abschnitt der Abbildung 11 macht deutlich, daß die durch **38** und **41** hervorgerufene Senkung der Körpertemperatur durch D-Amphetaminsulfat nicht wesentlich beeinflußt wird. Dagegen führt bei den mit Reserpin behandelten Tieren die gleiche D-Amphetamindosis zu ausgeprägter Hyperthermie.

Die Ptosiswirkung von **38** wird ebenfalls nicht aufgehoben, jedoch diejenige von **41** durch D-Amphetamin stark vermindert.

Die mit Reserpin behandelten Tiere zeigen zum Messzeitpunkt noch kaum Ptosis. Es ist aber aus gleichen Versuchsanordnungen mit einer Messung 90 min p.i. bekannt, daß die Ptosiswirkung von Reserpin durch gleichzeitige Gabe von D-Amphetaminsulfat aufgehoben wird.

Abb. 11: Interaktion von **38** und **41** mit D-Amphetaminsulfat (s.c.) in den Parametern 'Rektaltemperatur' und 'Ptosis' 30 und 90 min p.a.

D-Amphetaminsulfat (3,13 mg/kg) gleichzeitig mit Prüfsubstanz oder 0,9% NaCl

p.i.	Substanz	Rektaltemperatur ($\bar{s} \pm s_{\bar{x}}$), $s_{\bar{x}}$ = —	Zahl der Tiere mit Ptosis
		33 34 35 36 37 38 39 °C →	
30 min	CPZ-HCl (10 mg/kg)		10 / 10
	38 (50 mg/kg)		9 / 10
	41 (50 mg/kg)		2 / 10
	0,9 % NaCl		0 / 10
90 min	CPZ-HCl (10 mg/kg)		10 / 10
	38 (50 mg/kg)		6 / 10
	41 (50 mg/kg)		1 / 10
	0,9 % NaCl		0 / 10

D-Amphetaminsulfat (3,13 mg/kg) oder 0,9 % NaCl gleichzeitig mit Prüfsubstanz

Subst.1	Dosis (mg/kg)	Subs.2	Rektaltemperatur 30 min p.i.	Zahl der Tiere mit Ptosis
38	50	D-Am.		19 / 20
38	50	NaCl		20 / 20
41	50	D-Am.		3 / 20
41	50	NaCl		17 / 20
Reserpin-HCl	12,5	D-Am.		0 / 20
Reserpin-HCl	12,5	NaCl		5 / 20

Unterschied zur Kontrolle: +++ $p \leq 0,01$ / + $p > 0,05$

Inhibition der durch Reserpin induzierten Symptome
Ptosis und Hypothermie

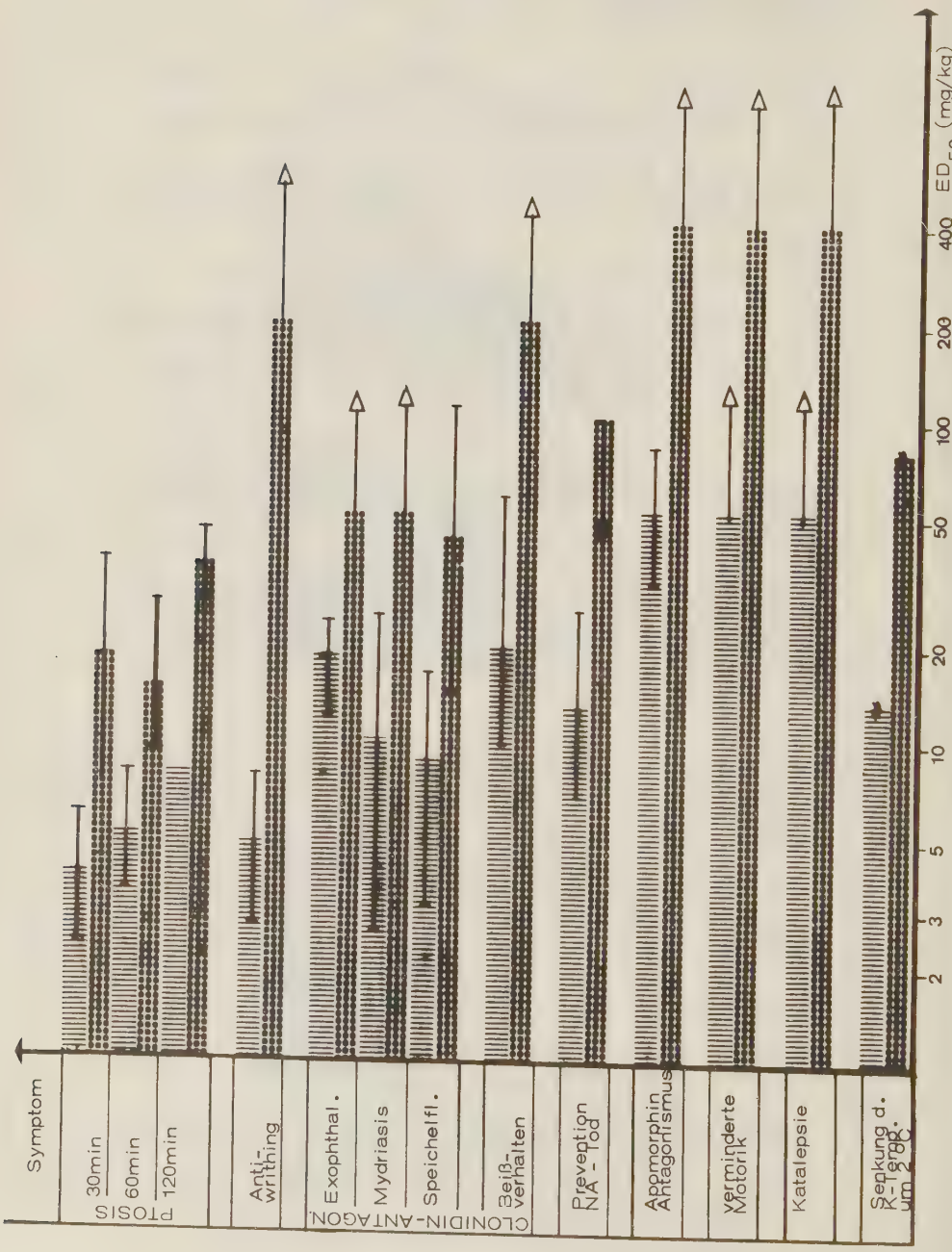
Sowohl die mit **38** als auch die mit **41** behandelten Tiere zeigten keine höheren Körpertemperaturen als die nur mit Reserpin behandelten Tiere. Es wurden im Gegenteil 90 min p.i. bei der Dosierung 50 mg/kg gegenüber den Kontrolltieren niedrigere Temperaturen gemessen.
Nach 5 Stunden betrugen die Unterschiede maximal 1,5°C.

In der Ptosiswirkung war bei den mit **38** und **41** behandelten Tieren gegenüber der Gruppe der Kontrolltiere kein Unterschied festzustellen.

Zusammenstellung der Ergebnisse der pharmakologischen Tests mit **38** und **41**

Die Abbildung 12 gibt zusammenfassend die in den einzelnen Versuchen erhaltenen Ergebnisse wieder und zeigt die Unterschiede im pharmakologischen Profil von **38** und **41** auf.

Abb. 12 Zusammenstellung der Ergebnisse der pharmakologischen Tests mit **38** (▤) und **41** (▦)



Biochemische Untersuchungen

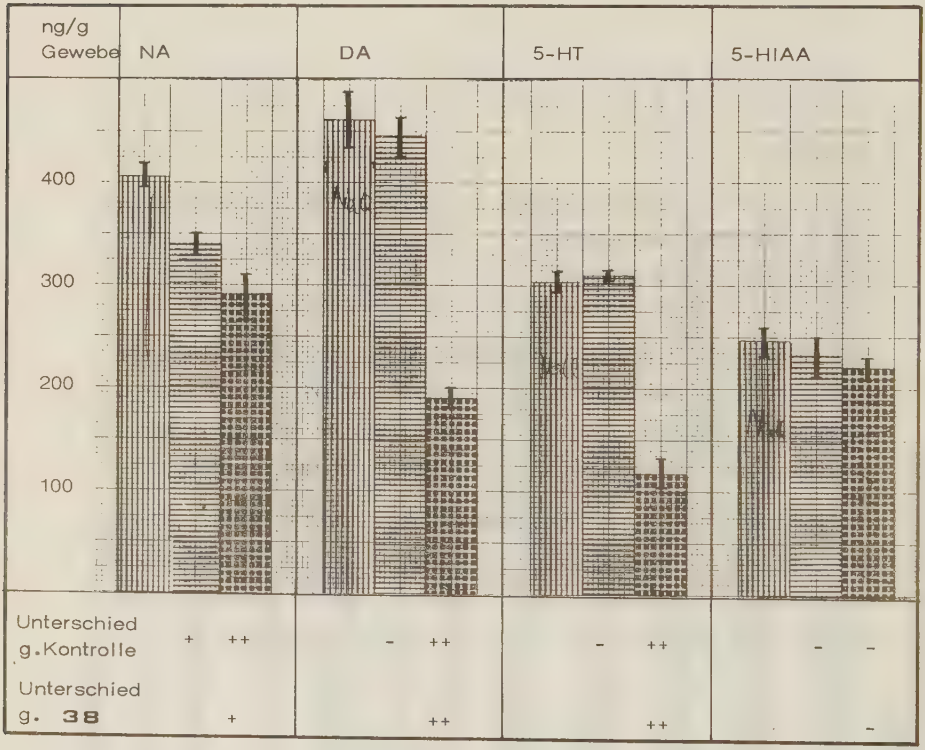
Die Ergebnisse der an der Ratte vorgenommenen Bestimmungen der Konzentrationen der biogenen Amine NA, DA, 5-HT und 5-HIAA zwei Stunden nach i.p. Gabe von **38** und **41** sind in der Abbildung 13 dargestellt.

Die NA-, DA- und 5-HT - Spiegel wurden durch **41** signifikant gesenkt. Durch **38** wurde lediglich eine leichte Verminderung der NA-Konzentration hervorgerufen.

Die Abbildung 14 gibt die Ergebnisse eines zweiten Versuchs an der Ratte wieder, bei dem die Wirkung von **38** und **41** auf die Akkumulation von L-DOPA, L-5-HT und 5-HIAA im Gehirn nach Gabe des Decarboxylase - Hemmers NSD 1015 bestimmt wurde.

In der Gruppe der mit **38** behandelten Tiere ist der L-DOPA - Spiegel gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Weit weniger ist dies bei den mit **41** behandelten Tieren der Fall. Die übrigen Konzentrationen änderten sich gegenüber den Kontrolltieren nicht wesentlich.

Abb.: Wirkung von **38** und **41** (100 mg/kg i.p.) auf den Spiegel von 13 NA, DA, 5-HT und 5-HIAA im Gehirn der Ratte 2 h p.a.



- = $p > 0,10$

\+ = $p \leqq 0,10$

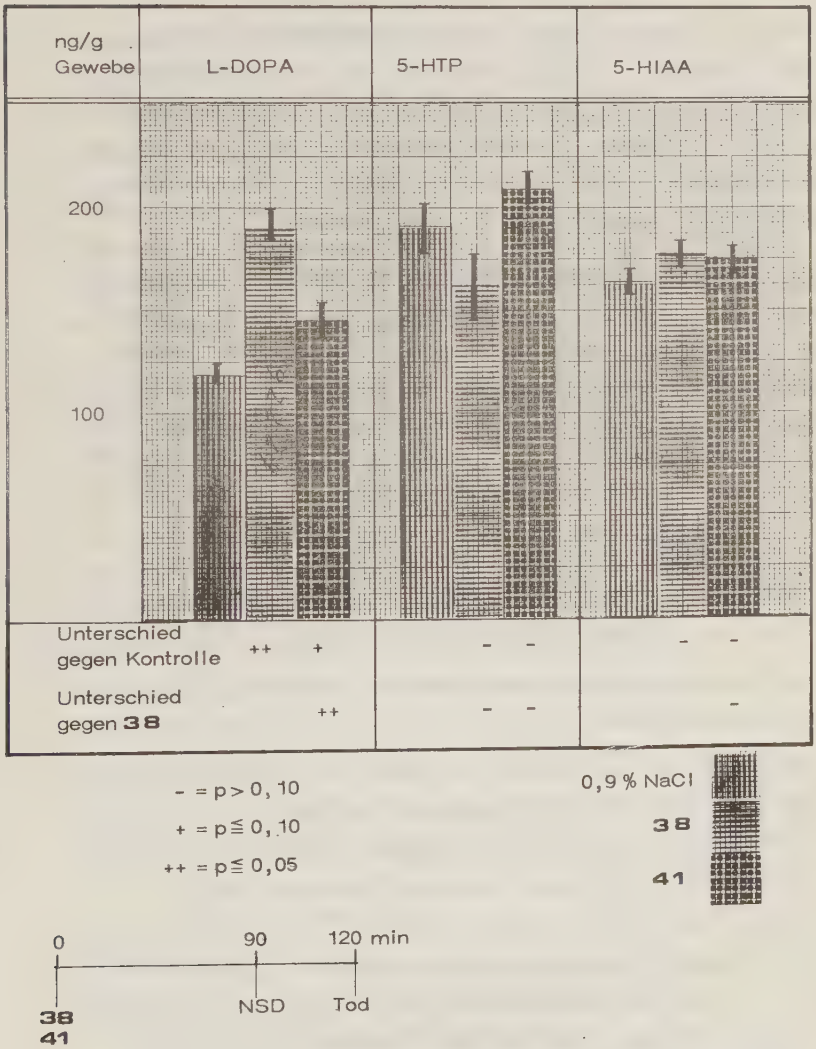
++ = $p \leqq 0,05$

0,9 % NaCl

38

41

Abb.: 14 Wirkung von **38** und **41** (100 mg/kg i.p.) auf die Akkumulation von L-DOPA, L-5HTP und 5-HIAA im Gehirn von der Ratte 2 h nach i.p. Applikation (30 min nach Applikation von NSD 1015)



3.3. Diskussion

Welches Wirkungsbild stellt sich nach den vorliegenden Ergebnissen für die Substanz **38** dar?

Für **38** ist als Substanzwirkung Ptosis und Hypothermie in relativ geringen Dosierungen (5mg/kg) gesichert. Das Wirkungsmaximum liegt in der Zeit von 30 - 60 min. p.a. und die Wirkungsdauer beträgt nicht mehr als 6 Stunden. Tonusverminderung, Katalepsie, verminderte Motorik und antikonvulsive Eigenschaften wurden nur in hohen Dosierungen im Screen beobachtet und sind nicht gesichert.

In Wechselwirkung mit anderen Pharmaka wirkt **38** antagonistisch in Bezug auf Apomorphin (ED_{50} um 50mg/kg), Clonidin (ED_{50} um 30 mg/kg), D-Amphetaminsulfat und verhindert die durch PPC hervorgerufenen Krämpfe ('writhes'), dagegen nicht antagonistisch in Bezug auf Oxotremorin (Screen). Die Substanzwirkung Ptosis und Hypothermie wird durch Nialamid oder durch D-Amphetamin nicht aufgehoben.

Die letale Dosis liegt über 1000 mg/kg i.p.. Damit ist die therapeutische Breite mindestens so groß wie die des Chlorpromazins. Nach p.o. - Gabe ist **38** 1/2 so wirksam wie nach i.p. Applikation.

Auf welchen Wirkungsmechanismus (welche - mechanismen) deuten diese Ergebnisse hin?

Aus den Screenbefunden geht eine Ähnlichkeit mit dem Neuroleptikum Chlorpromazin hervor. Als Wirkungsmechanismen des Chlorpromazins sind u.a. die Blockade von zentralen Dopamin- und Noradrenalinrezeptoren bekannt. Neuroleptisch wirksame Substanzen bewirken bei Mäusen Ptosis (Senkung des Augenlides) [99], die nach Tedeschi [116] durch folgende Mechanismen entstehen kann:

1. durch Senkung des Sympatikustonus (entweder peripher verursacht durch Ganglienblockade, α-adrenolytische Rezeptorblockade oder Ent-

116) Tedeschi, D.H., in: 'The Neuroleptics' 55 - 56, Hg.: s. 99) (1970)

speicherung von NA in den sympatischen Nervenendigungen, oder zentral durch präganglionäre Hemmung des Sympatikus über wiederum unterschiedliche Mechanismen).

2. durch Aktivierung des Nervus facialis.

Für Chlorpromazin wird hier eine präganglionäre Hemmung des Sympatikus und eine Aktivierung des Nervus facialis angegeben. Die durch Reserpin induzierte Ptosis ist dagegen auf den bereits in der Einleitung dieser Arbeit beschriebenen Mechanismus der Speicherentleerung zurückzuführen.

Da MAO-Hemmer wie Nialamid reserpinantagonistisch wirken, die Ptosiswirkung von **38** aber durch gleichzeitige Gabe von Nialamid nicht behindert wird, kann ein reserpinartiger Mechanismus zumindest für die Ptosiswirkung ausgeschlossen werden.

Die Wirkungsmechanismen der Pharmaka, deren Wirkung **38** antagonistisch beeinflußt, sind in der Tabelle 12 zusammengestellt. Apomorphin ist ein Dopamin Agonist [117), 118)], dessen Wirkung durch die Dopaminrezeptoren blockierenden Pharmaka wie Haloperidol und Chlorpromazin aufgehoben wird. Wird Noradrenalin i.v. in hohen Dosen injiziert, so tritt der Tod der Tiere durch Beeinflussung von Myocard und Gefäßmuskulatur über periphere Noradrenalinrezeptoren ein. α-Adrenolytica wie Chlorpromazin können diese NA-Wirkung antagonisieren [119)]. Clonidin bewirkt 'Exophthalmus', 'Mydriasis' und 'Speichelfluß' über Stimulation peripherer und/oder zentraler NA-Rezeptoren, das agressive Beißverhalten durch Stimulation zentraler NA- und wahrscheinlich auch Dopaminrezeptoren [120)]. Antagonistisch wirken hier am stärksten Levomepromazin daneben auch

117) Ernst, A.M. und Smelik, P.G., Experientia 22 , 837 - 838 (1966)

118) Andén, N.E., Rubenson, A., Fuxe, K. und Hökfelt, T., J.Pharm.Pharmac., 19 , 627 - 629 (1967)

119) Janssen, P.A.J., The Neuroleptics, Hg.: Bobon, D.P., Janssen, P.A.J. und Bobon, J., 33 - 44, S. Karger, Basel, 1970

120) Andén, N.E., Corrodi, H., Fuxe, K., Hökfelt, B., Hökfelt, T., Rydin, C. und Svensson, T., Life Sciences 9, I 513 - 523 (1970)

Chlorpromazin. D-Amphetamin bewirkt Hyperthermie über die Freisetzung von NA [121]. In diesem Test ist Chlorpromazin ein stärkerer Antagonist als Haloperidol.

Tabelle 12: Pharmaka, deren Wirkung **38** antagonistisch beeinflußt

SUBSTANZ	WIRKUNG	möglicher MECHANISMUS	ANTAGONIST
Apomorphin	Stereotypien	Dopamin Agonist	Haloperidol Chlorpromazin **38**
Noradrenalin i.v.	Tod	Beeinflussung von Myocard u. Gefäßmuskulatur über periphere NA-Rezeptoren	α-Adrenolytica Chlorpromazin **38**
Clonidin	Exophthalmus Mydriasis Speichelfluß	Stimulation peripherer und/oder zentraler NA-Rezeptoren	Levomepromazin Chlorpromazin **38**
	agressives Beißverhalten	und zentraler DA-Rezeptoren (?)	
D-Amphetamin	Hyperthermie	NA-Freisetzung	Chlorpromazin Haloperidol **38**
Oxotremorin	Tremor Hypothermie	zentrale cholinerge Stimulation	Biperiden Chlorpromazin

Damit läßt die apomorphinantagonistische Wirkung für **38** eine antagonistische Wirkung am Dopaminrezeptor vermuten, während der Clonidin-, Amphetamin- und Noradrenalinantagonismus auf eine α-adrenolytische Wirkung hinweisen.

Die Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen stützen die These der dopaminantagonistischen Wirkung:

121) Hollister, L.E. in: Drill's Pharmacology in Medicine, 502, Hg.: DiPalma, J.R., McGraw-Hill, New York, 1971

Dopaminagonisten wie Apomorphin senken die physiologische Neurotransmittersynthese und Antagonisten wie Haloperidol bewirken eine Steigerung wahrscheinlich über einen Rezeptor-bedingten "feedback"-Mechanismus[122]. Nach Behandlung mit Dopaminantagonisten ist deshalb im Rahmen der verstärkten Neurotransmittersynthese die Hydroxylierung von Tyrosin zu L-DOPA verstärkt. Dieser Schritt wird mit der angewandten Methode untersucht, indem die Decarboxylierung des L-DOPA zum Dopamin durch den Decarboxylase-Hemmer für aromatische Aminosäuren verhindert wird. Ist die Dopaminsynthese gesteigert, so kommt es nun zu einem im Vergleich mit den Kontrollen verstärkten Anstieg von L-DOPA.

Damit deutet der verstärkte Anstieg von L-DOPA bedingt durch **38** auf eine vermehrte Dopaminsynthese und damit auf einen dopaminantagonistischen Wirkungsmechanismus hin. Die Wirkung von **38** ist so mit der von Haloperidol vergleichbar, wo Kehr [122] mit derselben Methode bei Dosierungen um 0,5 mg/kg gleichfalls einen Dopaminanstieg feststellte.

Daher scheint **38** eine neuroleptika-ähnliche Substanz mit Dopamin- und Noradrenalinrezeptoren blockierender Wirkung zu sein, die gegenüber Chlorpromazin schwächer wirksam ist, eine kürzere Wirkungsdauer hat und keine anticholinergen Wirkungen aufweist.

So wird die von der chemischen Struktur her vermutete Wirkung als Dopaminantagonist, die zur Synthese dieser Verbindung den Anstoß gab, bestätigt.

Welches Wirkungsbild ergibt sich für die Substanz **41** ?

Gegenüber **38** fällt zunächst die in allen Tests geringere Wirksamkeit auf. Als Substanzwirkung bleiben Ptosis (ED_{50} um 20mg/kg) und Hypothermie erhalten. Die Wirkungsdauer ist nicht größer als 4 Stunden und das Wirkungsmaximum liegt zwischen 30 und 90 min. p.a..

122) Kehr,W.,Carlsson,A. und Lindqvist,M., Advances in Neurology, 9 185 - 195 Hg.: Calne,D.B.,Chase,T.N. und Barbeau,A., Raven Press, New York 1975

In den Interaktionstests mit anderen Pharmaka zeigt **41** keine Anti-apomorphinwirkung, keine Anti-Writhing-Wirkung und in den Parametern 'Exophthalmus', 'Mydriasis' und 'Agressives Beißverhalten' keinen Clonidinantagonismus. Aufgehoben wird dagegen der durch NA induzierte Tod und der durch Clonidin hervorgerufene 'Speichelfluß'. Die Ptosiswirkung wird durch Nialamid und durch D-Amphetaminsulfat teilweise aufgehoben. Nicht beeinflußt wird dagegen durch Nialamid oder D-Amphetamin die Senkung der Körpertemperatur.

An der Ratte führt die Gabe von 100 mg/kg i.p. zur Senkung der Dopamin- Noradrenalin- und Serotoninspiegel im Gehirn.

Welchen Wirkungsmechanismus kann man vermuten?

Hinweise auf dopaminantagonistische Wirkung sind nicht vorhanden. Da die Ptosis teilweise durch Nialamid aufgehoben wird, kann ein reserpinartiger Wirkungsmechanismus nicht ausgeschlossen werden. Für einen solchen Mechanismus sprechen auch die teilweise Aufhebung der Ptosiswirkung durch D-Amphetaminsulfat, der fehlende Clonidinantagonismus in den Parametern 'Exophthalmus', 'Mydriasis' und 'Agressives Beißverhalten' und vor allen Dingen die an der Ratte beobachteten Senkungen der Konzentrationen der Catecholamine und des Serotonins. Andererseits wird die Hypothermie durch Nialamid und durch D-Amphetaminsulfat nicht aufgehoben, wie es bei der durch Reserpin induzierten Hypothermie der Fall ist. Es müssen zusätzlich α-adrenolytische Mechanismen vorliegen, da der durch Noradrenalin induzierte Tod verhindert und Clonidin im Parameter 'Speichelfluß' antagonisiert wird. Ob diese verschiedenen Mechanismen nebeneinander vorliegen, oder ob es verschiedene Wirkorte gibt, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden.

4. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit werden in 2-Stellung unterschiedlich substituierte 1,2,3,4-Tetrahydro-ß-carboline synthetisiert. Zum einen werden analog der Struktur des Reserpins Trimethoxyphenylalkyl-Derivate, zum anderen analog der Struktur des Dopamins Dimethoxyphenylalkyl-Derivate als dessen potentielle Antagonisten und ein Diacetoxyphenyläthyl-Derivat als dessen potentieller Agonist synthetisiert. Die weitere Modifizierung der Derivate beider Reihen liegt in der unterschiedlichen Verknüpfung von Carbolin- und Tri-(Di-)methoxyphenylteil. Die Verknüpfung besteht aus gesättigten Kohlenwasserstoffketten (1 - 3 C-Atome) oder sie enthält Säureamid-, Ester- oder Ketofunktionen und/oder Doppelbindungen.

Als Synthesewege dienen zur Säureamidbildung die Reaktion der entsprechenden Säurechloride mit 1,2,3,4-Tetrahydro-ß-carbolin (**30**) in geeigneten Lösungsmitteln unter Zusatz von Natriumcarbonat, zur Herstellung der Amine die Reduktion dieser Säureamide mit Lithiumaluminiumhydrid und zur Esterbildung die Anlagerung von Äthylenoxid an **30** mit anschließender Veresterung des entstandenen Aminoalkohols mit Trimethoxybenzoylchlorid. Schießlich wird durch Umaminierung von ß-Dimethylamino-3,4,5-trimethoxypropiophenonhydrochlorid (**51**) das entsprechende Mannich-Salz des Tetrahydro-ß-carbolins erhalten.

Es werden ^{1}H-NMR- Massen- und IR-spektroskopische Daten dieser Verbindungen diskutiert.

In einem Maus-Screen auf ZNS-Wirksamkeit erweisen sich die Verbindungen, deren Verknüpfung zwischen Carbolin- und Methoxyphenylteil aus gesättigten Kohlenwasserstoffketten bestehen als die wirksamsten, und zwar ist die günstigste Länge dieser Kette zwei C-Atome, es folgen drei und schließlich ein C-Atom. Darüberhinaus sind Dimethoxy-Derivate wirksamer als Trimethoxy-Derivate.

Mit der wirksamsten Verbindung, dem Dimethoxyphenyläthyl-Derivat **38**

und dem Trimethoxyphenylpropyl-Derivat **41** werden weitere pharmakologische und biochemische Untersuchungen an der Maus und an der Ratte durchgeführt. Es werden für im Screen beobachtete Substanzeffekte Dosis- und Zeitwirkungsbeziehungen und relative Wirksamkeiten im Vergleich mit Standardsubstanzen ermittelt. Durch Interaktionstests mit anderen Pharmaka und durch die biochemischen Untersuchungen (Bestimmung der Konzentrationen der biogenen Amine im Gehirn der Ratte nach Applikation der Prüfsubstanzen) werden Hinweise auf mögliche Wirkungsmechanismen erhalten.

38 scheint nach diesen Untersuchungen eine Neuroleptika-ähnliche Substanz mit Dopamin- und Noradrenalinrezeptoren blockierender Wirkung zu sein, die gegenüber Chlorpromazin schwächer wirksam ist, und eine kürzere Wirkungsdauer hat.

41 ist im Vergleich mit **38** in allen Tests schwächer wirksam. Die Ergebnisse der Interaktionstests und der biochemischen Untersuchungen deuten zum Teil auf einen reserpinartigen Wirkungsmechanismus hin, daneben gibt es aber auch Hinweise auf Noradrenalinrezeptoren blockierende Wirkungen.

Die vorliegende Arbeit wurde am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Klaus Rehse durchgeführt. Herrn Professor Rehse danke ich für die Überlassung des Themas und für die großzügige Unterstützung und Förderung dieser Arbeit.

Lebenslauf

27. Januar 1947	geboren in Herten(Westf.)
Eltern	Landwirt Josef Schulte-Sienbeck Margarethe Schulte-Sienbeck, geb. Tüshaus
1953 - 1957	Grundschule in Westerholt
1957 - 1966	mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium in Herten (Westf.)
15. Februar 1966	Reifeprüfung in Herten
1966 - 1968	Pharmazeutisches Praktikum in der Greif-Apotheke in Oer-Erkenschwick
22. März 1968	Pharmazeutische Vorprüfung in Münster
SS 1968 - WS 1970/71	Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin
21. April 1971	Pharmazeutische Prüfung in Berlin
15. August 1971	Beginn der vorliegenden Dissertation am FB Pharmazie der Freien Universität Berlin
1. Oktober 1971 - 30. September 1975	Wissenschaftliche Assistentin am FB Pharmazie der Freien Universität Berlin
6. Oktober 1971	Approbation als Apotheker